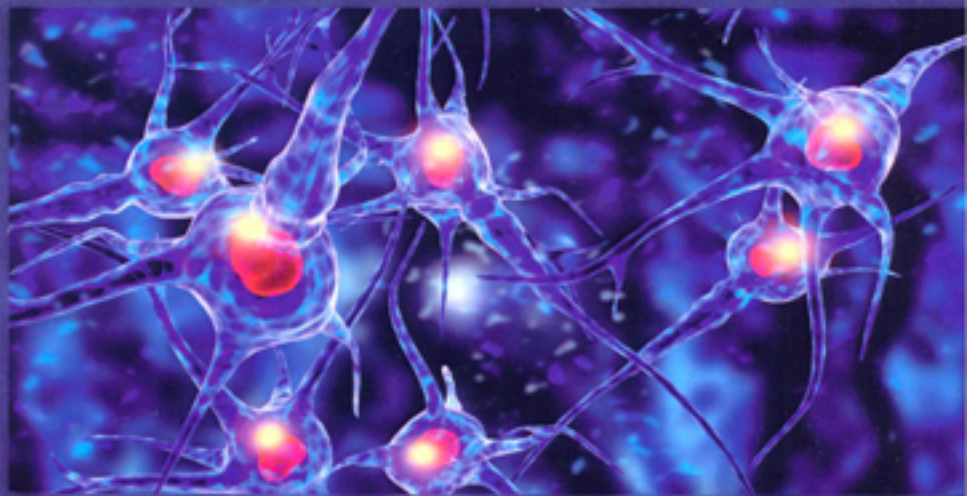


А. В. Сидоров



ОСНОВЫ КЛЕТОЧНОЙ НЕЙРОБИОЛОГИИ



УЧЕБНОЕ **П**ОСОБИЕ

А. В. Сидоров

ОСНОВЫ КЛЕТОЧНОЙ НЕЙРОБИОЛОГИИ

*Допущено
Министерством образования Республики Беларусь
в качестве учебного пособия для студентов
учреждений высшего образования
по специальностям магистратуры «Биология»,
«Биохимия»*

УДК 591.18.(075.8)+612.8(075.8)
ББК 28.673я73+28.707.3я73
С34

Рецензенты:
кафедра нормальной физиологии
Гродненского государственного медицинского университета
(заведующий кафедрой доктор медицинских наук,
профессор *В. В. Зинчук*);
доктор медицинских наук, профессор,
академик НАН Беларуси *В. А. Кульчицкий*

Сидоров, А. В.
С34 Основы клеточной нейробиологии : учеб. пособие / А. В. Сидоров. — Минск : БГУ, 2020. — 395 с. : ил.
ISBN 978-985-881-002-3.

Приводятся современные представления о структурной организации нервной ткани, физиологии нервных клеток и синаптической передачи, сигнальных механизмах меж- и внутриклеточной коммуникации. Уделяется внимание развитию нервной системы в онтогенезе, строению нервных центров осцилляторного типа (центральных генераторов ритмической активности) и модельных нейронных сетей.

УДК 591.18.(075.8)+612.8(075.8)
ББК 28.673я73+28.707.3я73

ISBN 978-985-881-002-3

© Сидоров А. В., 2020
© БГУ, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	6
1. МОРФОЛОГИЯ НЕРВНЫХ КЛЕТОК И КОНТАКТОВ.....	9
1.1. Нервные клетки	11
1.1.1. Становление нейронной доктрины.....	13
1.1.2. Особенности строения тела нервных клеток	18
1.1.3. Основные части нейрона	25
1.1.4. Аксон	26
1.1.5. Аксонный транспорт.....	30
1.1.6. Дендриты	34
1.1.7. Классификация нервных клеток	38
1.2. Клетки нейроглии	51
1.2.1. Типы глиальных клеток	53
1.2.2. Нервные волокна	60
1.2.3. Гематоэнцефалический барьер	65
1.3. Межклеточные контакты	70
1.3.1. Основные типы межклеточных соединений	72
1.3.2. Электрические синапсы	79
1.3.3. Химические синапсы	88
1.3.4. Классификация химических синапсов	99
1.3.5. Смешанные синапсы	104
1.4. Развитие нервной системы.....	111
1.4.1. Нейруляция у позвоночных.....	111
1.4.2. Дифференцировка нервной трубки на анатомическом уровне	115
1.4.3. Дифференцировка нервной трубки на тканевом и клеточном уровнях	118
1.4.4. Развитие органов зрения и слуха.....	122
1.4.5. Нервный гребень и его производные	125
1.4.6. Эмбриональная индукция	127
1.4.7. Передача сигнала к геному	135
2. ФИЗИОЛОГИЯ НЕРВНЫХ КЛЕТОК И СИНАПСОВ	139
2.1. Мембранный транспорт.....	141
2.1.1. Транспортные свойства мембраны	141
2.1.2. Первичный активный транспорт	145
2.1.3. Вторичный активный транспорт.....	149

2.1.4. Ионные каналы плазматической мембраны.....	151
2.1.5. Ионные каналы возбудимых мембран	154
2.1.6. Концентрация ионов по разные стороны мембраны	163
2.2. Электрические сигналы клеток	166
2.2.1. Типы электрических сигналов.....	168
2.2.2. Электрические свойства мембран нейронов	172
2.2.3. Миелиновая оболочка отростков нейрона	179
2.2.4. Нейронная интеграция при взаимодействии синапсов	183
2.3. Ионные механизмы формирования электрических сигналов.....	185
2.3.1. Мембранный потенциал.....	185
2.3.2. Потенциал действия	188
2.3.3. Ионные токи через одиночные каналы	195
2.3.4. Синаптические потенциалы.....	197
2.3.5. Потенциалы при электрической передаче сигнала	201
2.4. Механизмы выделения нейромедиатора.....	209
2.4.1. Деполяризация нервного окончания	209
2.4.2. Квантовая секреция медиатора	212
2.4.3. Морфологические корреляты квантового выделения.....	220
2.4.4. Молекулярные основы выделения медиатора	224
3. ФАРМАКОЛОГИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ	231
3.1. Рецепторы и медиаторы	233
3.1.1. Межклеточная коммуникация и пути передачи сигналов через мембрану	234
3.1.2. Рецепторы с протеинкиназной активностью	238
3.1.3. Связанные с G-белками рецепторы	241
3.1.4. Основные системы вторичных посредников.....	247
3.1.5. Общая характеристика рецепторов и лигандов.....	252
3.1.6. Методы, используемые для характеристики нейромедиаторных систем мозга.....	256
3.1.7. Критерии идентификации и классификация нейромедиаторов и нейромодуляторов	265
3.2. Нейромедиаторные системы мозга.....	271
3.2.1. Ацетилхолин.....	272
3.2.2. Гистамин	282
3.2.3. Серотонин	285
3.2.4. Катехоламины	290
3.2.5. Аминокислотные нейромедиаторы	298
3.3. Нейромодуляторы	311
3.3.1. Пурины и пиримидины	311
3.3.2. Нейропептиды.....	315
3.3.3. Производные жирных кислот.....	322
3.3.4. Газообразные нейромодуляторы	325
4. НЕЙРОННЫЕ СЕТИ МОЗГА.....	331
4.1. Клеточная организация нервных центров.....	333
4.1.1. Рефлекторная дуга	334
4.1.2. Центральные генераторы ритма	337

4.1.3. Объемная и проводниковая передача сигнала.....	346
4.1.4. Распространение сигналов в нейронных сетях.....	352
4.2. Модельные нейробиологические объекты и нейронные сети	356
4.2.1. Нейрофизиологические основы пресноводного легочного моллюска <i>Lymnaea stagnalis</i>	357
4.2.2. Клеточная организация мозжечка	365
4.3. Эффективность синаптической передачи	371
4.3.1. Взаимодействие синапсов и эффективность синаптической передачи	372
4.3.2. Временная зависимость эффективности синаптической передачи	376
4.3.3. Эффективность электротонической передачи	383
ПОСЛЕСЛОВИЕ	387
БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ.....	389
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	394

ПРЕДИСЛОВИЕ

Нервная система организует и определяет функционирование организма животных. Интерес к физиологии нервных процессов, в самом широком понимании этого термина, сохраняется на протяжении всей истории естествознания, начиная с первых научных школ Древнего мира. Невероятная сложность одной только структурной организации, не говоря уже об открываемых этим функциональных возможностях нервной системы, особенно в отношении крупных, содержащих многомиллиардные ассоциации нейронов таких структур, как мозг человека, требует для изучения данные из различных областей знаний и комплекса дисциплин биологической и медико-биологической направленности: нейроанатомия, нейрофизиология, нейрогистология, нейроэмбриология и т. п. Фактически методология многих естественных и гуманитарных наук может успешно использоваться для решения вопросов, связанных с выяснением и детализацией функций нервной системы. В совокупности это привело к тому, что в последние десятилетия принято выделять отдельную область знаний — нейронауку, или науку о мозге (англ. *neuroscience*). В отечественной литературе традиционно принято использовать термин **нейробиология**, понимая под ним сферу научной деятельности, направленную на изучение нервной системы преимущественно в рамках биологических дисциплин (физиология, биохимия, эмбриология, генетика и т. п.).

Середина XX века отмечена резким ростом числа научных публикаций во всех областях знаний (рис. 1). При этом данные, относимые к области нейронаук, занимают одну из лидирующих позиций. Принимая во внимание, что за последние 200 лет примерное количество статей, опубликованных в научных журналах, составляет приблизительно 40 млн (!), становится понятным, что адекватный анализ имеющегося массива экспериментальных данных вряд ли возможен в рамках одного издания. Неудивительно, что ряд учебных руководств по нейробиологии (например, *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical*) представляет собой скорее кодекс, насчитывающий тысячи страниц текста, а не привычные классические учебные пособия.

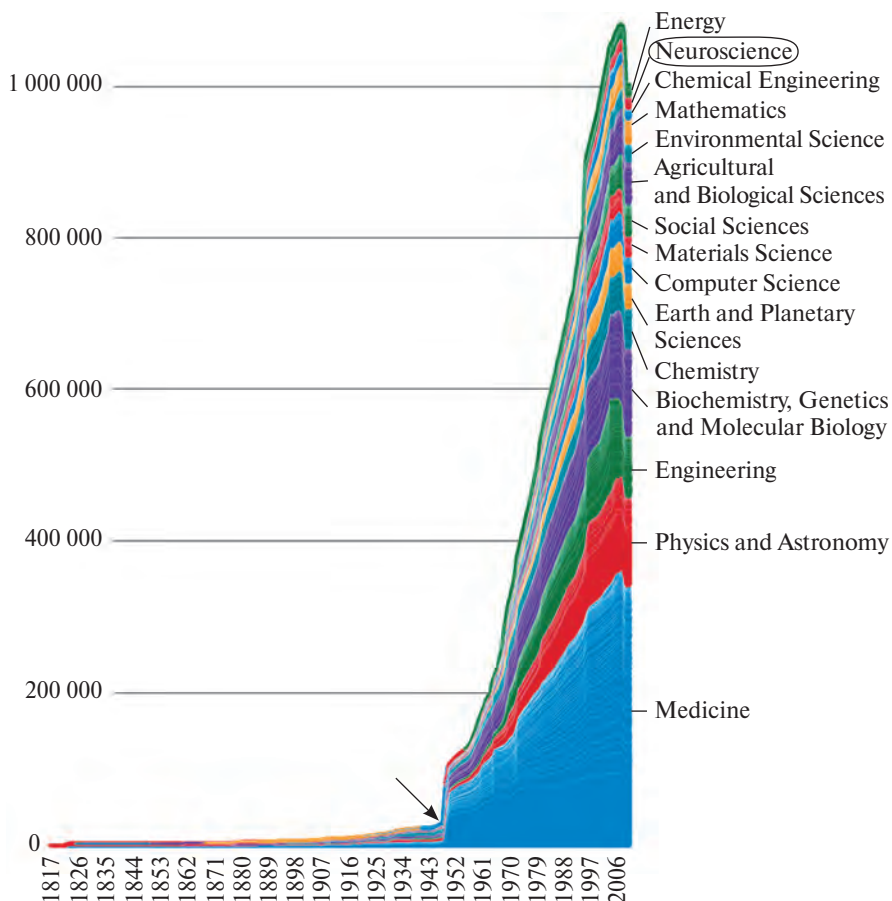


Рис. 1. Число цитируемых статей (ось ординат) по годам (ось абсцисс) (по М. el Aisati, 2011).

Представлены данные за 1817–2009 гг.

Резкий рост числа цитирований приходится на начало 50-х гг. XX века (отмечено стрелкой). Публикации, относимые к сфере нейронауки (neuroscience), выделены овалом

Тем не менее разработка и создание учебных руководств в данной сфере по-прежнему актуальны, так как позволяют доносить до студентов не только новые сведения, но и системные представления о дисциплине¹.

¹ Настоящее учебное пособие подготовлено в рамках выполнения ГПНИ «Конвергенция-2020» (задание 3.10.2).

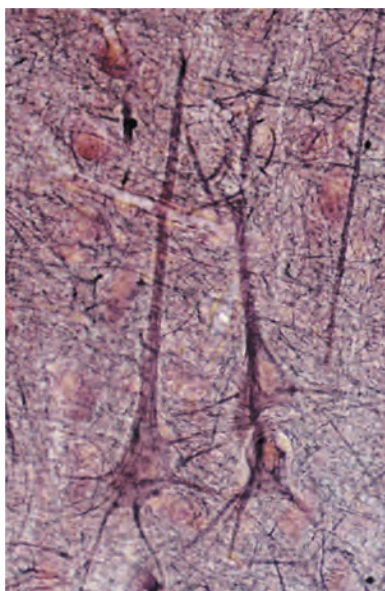
В предлагаемом издании основное внимание уделено клеточным основам организации и функционирования нервной системы. Такой подход основан на том, что широко признанным является закрепление за нервной клеткой (нейроном) роли структурно-функциональной единицы, т. е. такого элемента, который имеет все необходимое для осуществления функций, характерных для органа в целом (в отличие от мозга для других органов при упоминании структурно-функциональных единиц принято говорить о комплексах клеток совместно работающих тканей). Сказанное не стоит воспринимать буквально, поскольку именно в курсе нейробиологии можно наглядно продемонстрировать несостоятельность каких-либо догматических утверждений применительно как к строению и функциям нервной системы, так и к живому организму в целом.

Данное учебное пособие предназначено прежде всего для студентов второй ступени высшего образования (магистратуры), прошедших теоретическую и практическую подготовку по ключевым дисциплинам биологического профиля. В силу этих особенностей изложение материала не всегда соответствует классической схеме, представляющей последовательную цепочку данных и плавных переходов от одной темы к другой. Хочется выразить надежду, что это не станет препятствием для успешной работы с книгой.

Настоящее издание основано на материалах лекционных курсов «Нейробиология», «Анатомия человека», «Основы биологии развития», «Физиология межклеточной коммуникации», читаемых автором магистрантам и студентам по специальностям «Биология», «Биохимия» и «Микробиология» на биологическом факультете Белорусского государственного университета. В работу включены как переработанные материалы классических руководств по нейрофизиологии, анатомии и эмбриологии, так и обзорных и экспериментальных статей, учебных пособий автора, данные о которых приводятся в конце книги.

Автор выражает искреннюю благодарность коллективу кафедры физиологии человека и животных биологического факультета Белорусского государственного университета за возможность обсуждения и дискуссии по многим актуальным вопросам нейрофизиологии, что, несомненно, способствовало более глубокому и предметному изложению материала. Отдельная признательность адресуется рецензентам за советы и замечания по содержанию рукописи, а также сотрудникам управления редакционно-издательской работы БГУ за подготовку рукописи к печати.

МОРФОЛОГИЯ НЕРВНЫХ КЛЕТОК И КОНТАКТОВ



1.1. НЕРВНЫЕ КЛЕТКИ

Нейро́н (от греч. *neuron* — жила, нерв), или **нервная клетка** (нейроцит), — основная структурная и функциональная единица нервной системы. Относится к клеткам отростчатого типа и обладает специфическими проявлениями возбудимости, включая способность генерировать, проводить и передавать электрические сигналы, называемые нервными импульсами.

При массе ~1,5 кг головной мозг человека (рис. 2) состоит из ~86 млрд нейронов, из которых ~16 млрд (19 %) относятся к коре больших полушарий, спинной (~40 г) — из ~100 млн нервных клеток, а еще ~500 млн их приходится на долю энтеральных узлов кишечника.



Рис. 2. Головной мозг человека, окруженный сосудистой оболочкой (внешний вид) (по Шаде и Форду, 1976)

Однако данные по числу нервных клеток в мозге человека не являются чем-то исключительным. В частности, головной мозг слона насчитывает ~257 млрд нейронов и ~216 млрд клеток других типов, в основном глии.

Интересно, что из этого числа 251 млрд нейронов и 38 млрд глии приходится на долю мозжечка, а количество этих клеток в пределах коры составляет «все-го» 5,6 и 150 млрд соответственно.

Мозг одомашненных животных (куры, свиньи, собаки и кошки) не отличается по размерам и числу клеток от мозга их диких сородичей.

Головной мозг кошек насчитывает 1,2, а собак — 2,2 млрд нейронов, позволяя утверждать некоторым любителям собак, что их питомцы умнее кошек.

Если говорить о числе нервных клеток, то не существует очевидных различий между мозгом хищных и их добычи при сравнении животных одних линейных размеров. В целом наблюдается крайне слабая корреляция между абсолютным числом нейронов (глии) коры и когнитивными способностями. Понятно, что если бы указанные различия (зависимости) были ярко выражены, то это дало бы существенные эволюционные преимущества одной из групп (например, хищникам по сравнению с их жертвами), что неминуемо привело бы к вымиранию одной из групп, а в случае нашего примера с «умственным доминированием» именно жертв — и последующей элиминации хищников. В действительности этого не наблюдается — численность хищников и их добычи взаимосвязана и в норме находится на стационарном уровне (исключая саморегулируемые в таких системах вспышки численности).

Еще одним ярким доказательством отсутствия четкой взаимосвязи между размером мозга и интеллектуальными способностями человека являются данные приводимой ниже таблицы (рис. 3).

	Alter	g		Alter	g
Cuvier (Anatom)	63	1861	Schiller (Dichter)	46	1580 (berechn.)*
Byron (Dichter)	36	1807	Dante (Dichter)	—	1420
Dirichlet (Mathematiker)	54	1520	Kant (Philosoph)	82	1600
Fuchs (Mediziner)	52	1499	Hermann (Nationalökonom)	73	1590
Gauss (Mathematiker)	78	1492	Pfeuffer (Mediziner)	60	1488
Dupuytren (Chirurg)	58	1437	Ch. Bischoff (Mediziner)	79	1452
Hermann (Philologe)	51	1358	Melchior Meyr (Dichter)	61	1415
Hausmann (Mineraloge)	77	1226	J. Huber (Philosoph)	49	1409

* Nach dem durch Forriep untersuchten Schädel 1300 g.

	Alter	g		Alter	g
Fallmerayer (Historiker)	74	1349	Bunsen (Chemiker)	88	1295**
J. v. Liebig (Chemiker)	70	1352	Mommsen (Historiker)	86	1425**
Fr. Tiedemann (Physiolog)	79	1254	Menzel (Kunstmaler)	89	1298†
E. Harless (Physiolog)	40	1238	Häckel (Zoolog)	86	1575
Ignaz Döllinger (Physiolog)	71	1207	Gambetta (Redner)	—	1160
Sonja Kowalewski (Mathematikerin)	41 ca.	1385	Anatole France (Schriftsteller)	—	1017
H. Gylden (Astronom)	55	1452			

** Starke Altersatrophie des Gehirns.
† Ohne Pia und ohne Flüssigkeit gewogen, keine sichtbaren Altersveränderungen des Gehirns.

Рис. 3. Масса головного мозга (g) у представителей интеллектуальной элиты (по F. Kopsch, 1930)

Это часть сканированной страницы немецкого учебника по анатомии человека 1930 г. издания, т. е. опубликованного буквально за несколько лет до печально известных Нюрнбергских расовых законов (1935), однако даже в этих условиях ее данные не позволяют усомниться в отсутствии зависимости интеллектуального вклада в развитие человечества от массы мозга, не говоря уже о возможной ее корреляции с национальностью, возрастом, полом, сферы научной деятельности и т. п.

Данная таблица оставлена без перевода на русский язык, что, надеюсь, не вызовет затруднений у читателя в случаях толкования фамилии ученых и рода их деятельности (*alter* (*нем.*) — возраст).

1.1.1. СТАНОВЛЕНИЕ НЕЙРОННОЙ ДОКТРИНЫ

Понятие «нейрон» как основной, самостоятельной анатомической и физиологической единицы нервной системы было введено в научный обиход немецким анатомом и гистологом Г. Вальдейером (Heinrich Wilhelm Waldeyer, 1836—1921) в 1891 г. при анализе и обобщении наблюдений С. Рамон-и-Кахаля, В. Гиса, А. Келликера, А. Ретциуса и др. Оно стало краеугольным камнем для изложения положений нейронной теории организации нервной системы.

Представление о том, что каждая нервная клетка является обособленным элементом нервной ткани, достаточно долго завоевывало право на существование. Окончательно эта идея утвердилась лишь в 30-х гг. XX века, т. е. по прошествии почти ста лет после выхода в свет монографии Т. Шванна «Микроскопические исследования» (1839), в которой были изложены основные положения клеточной теории.

Одно из положений теории можно сформулировать так: «Каждая клетка *самостоятельна* в своей жизнедеятельности».

Передовая гистологическая техника середины XIX века предполагала широкое использование в качестве красителей гематоксилина или кармина и была совершенно бесполезна для исследования тонкой структуры нервной ткани. Отсутствие надежного метода окраски, позволявшего четко различить отдельные клетки мозга, приводило к тому, что первые нейрогистологи при изучении срезов серого вещества могли наблюдать лишь сложную картину переплетающихся волокон.

Однако даже с учетом несовершенства гистологических методик первая половина и середина XIX века ознаменовались значительным числом открытий в области нейроморфологии. В частности, один из учеников Пуркинье, Габриэль Густав Валентин (1810—1883), в 1836 г. представляет первое документированное описание тела нейрона, содержащим ядро с ядрышком и с отходящим от него

отростком. Годом позже его учитель Ян Евангелиста Пуркинье (1787–1869), дает описание как отдельных кластеров тел клеток мозжечка (впоследствии названных в его честь клетками Пуркинье), так и их волокно-подобных отростков (дендриты клеток Пуркинье). В это же время (1836) Роберт Ремак (1815–1865) обнаруживает, что нервная ткань содержит множество нитевидных отростков, вероятно, берущих начало от тел нервных клеток (в последующие десятилетия именно он впервые указал на наличие в нервной ткани как миелинизированных, так и немиелинизированных волокон).

Отто Фридрих Карл Дейтерс (1834–1863) в начале 60-х гг. XIX века дает весьма детальное описание особенностей организации нервной ткани. Используя в качестве красителей хромовую кислоту и карминовый красный в сочетании с разработанной техникой препаровки тканей под микроскопом он смог получить исключительно детализированные изображения нейронов в составе серого вещества спинного мозга (рис. 4). Именно он впервые выделил два типа отростков нервных клеток, отходящих от их тел: многочисленные, тонкие и ветвящиеся протоплазматические и длинный, маловетвящийся осевой цилиндр. Впоследствии эти типы отростков получили название дендритов (В. Пис, 1889) и аксонов (А. фон Келликер, 1896). К сожалению, ранняя смерть О. Дейтерса в 29 лет (от брюшного тифа) не позволила ему продолжить и развить начатые исследования (работа по микроанатомии спинного мозга была опубликована посмертно).

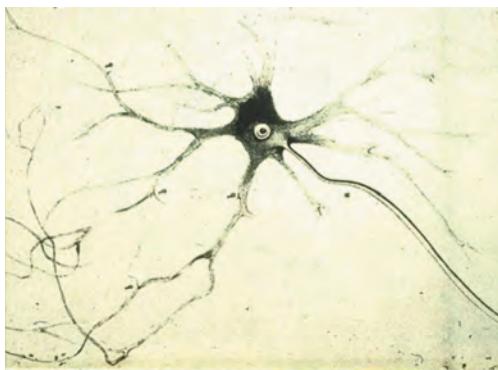


Рис. 4. Оригинальная иллюстрация О. Дейтерса, показывающая наличие двух типов отростков нервных клеток (по Bentivoglio M. e. a., 2019)

В результате сложилось представление о синцитии в нервной ткани, что и составило основу теории сети, выдвинутой Дж. Герлахом (J. Gerlach, 1820–1896) в 1871 г. Ее сущность заключалась в том, что отходящие от нервных клеток волокна, ветвясь и соединяясь (точнее, образуя анастомозы), формируют сплошную сеть, собственно, и составляющую серое вещество (рис. 5).

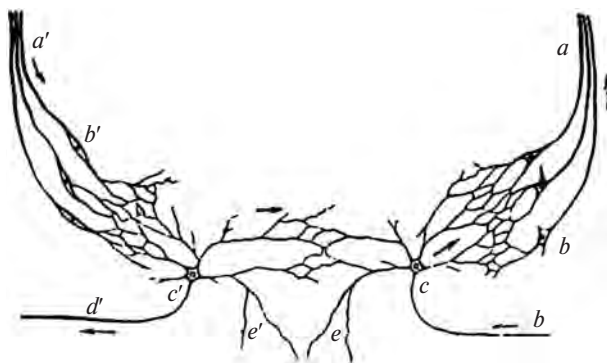


Рис. 5. Ретикулярная организация нервной ткани
в иллюстрации Дж. Герлаха (по Sabbatini R.M.E., 2019)

Однако уже по прошествии нескольких лет теории сети был нанесен весьма чувствительный удар, от которого она, в своем старом выражении, так и не сумела оправиться.

В 1873 г. итальянский гистолог К. Гольджи (C. Golgi) публикует короткую заметку в *Gazzetta Medica Italiana*, в которой сообщает, что ему удалось разглядеть структурные составляющие серого вещества, используя технику пропитки (импрегнации) нервной ткани солями металлов. Работа Гольджи 1875 г. была уже снабжена рисунками отдельных нейронных элементов из состава обонятельной луковицы, визуализация которых стала возможной благодаря разработанной им гистологической технике (рис. 6).

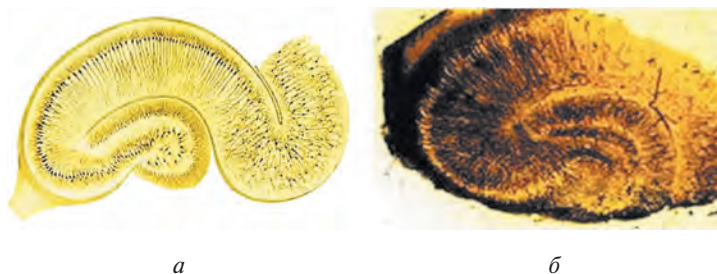


Рис. 6. Нейронная организация гиппокампа:
рисунк (а), выполненный К. Гольджи с препарата (б),
по разработанной им методике импрегнации (по Bertivoglio, 2003)

Суть метода Гольджи (окраски, или серебрения, по Гольджи) состоит в том, что предварительно выдержанная в бихромате калия нервная ткань пропитывается нитратом серебра (так называемое серебрение по Гольджи).

В результате произвольным образом малая часть клеток (около 3 % от их общего числа в пределах среза) окрашивается целиком, т. е. не только тело, но и мельчайшие отростки клетки становятся доступными для наблюдения в оптический микроскоп. Избирательность подобной реакции нервной ткани на действие красителя до сих пор остается загадкой.



Камилло Гольджи
(1844–1926)

Итальянский гистолог. Изучал медицину в университете Павии. Научную карьеру начал в 1869 г. В первой половине 70-х гг. XIX века, параллельно занимаясь медицинской практикой, разработал методику окраски нервной ткани (окраска Гольджи). С 1876 г. работал в университете г. Павия, занимая посты профессора гистологии, заведующего кафедрой и директора основанного им Института общей патологии, декана медицинского факультета, ректора университета.

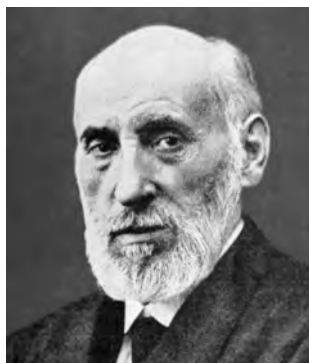
Помимо работ по нейроморфологии, известность ему принесли исследования субклеточных структур (аппарат Гольджи). Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1906, совместно с С. Рамон-и-Кахалем).

В течение 80-х гг. XIX века на основании данных работ ряда ведущих нейрогистологов был сделан вывод об отсутствии каких-либо анастомозов между нервными клетками. Решающий вклад в становление представлений о «самостоятельности» нервных клеток внесли наблюдения В. Гиса (W. His) за развитием нервной системы из отдельных нейробластов, А. Фореля (A. Forel) — за процессом атрофии нервных клеток при разрушении нервных волокон и особенно С. Рамон-и-Кахаля (S. Ramon y Cajal), широко использовавшего метод Гольджи (в который он внес немало усовершенствований и дополнений, вплоть до собственных методик окраски нервной ткани солями золота) при изучении строения различных отделов центральной и периферической нервной системы в онто- и филогенезе.

Именно в ходе этих работ С. Рамон-и-Кахалем было установлено присутствие индивидуальных нервных клеток в составе любых изученных участков мозга человека и животных. При этом расширенные окончания аксонов в месте их соприкосновения с телами других нейронов послужили доводом в пользу доказательства отсутствия непрерывности между цитоплазмой контактирующих нервных клеток. Отчасти этим открытиям способствовали объекты исследования — участки мозга молодых животных, в том числе и мозга птиц, содержащие множество хорошо окрашиваемых по методу Гольджи немиелинизированных волокон.

Испанский гистолог. Изучал медицину в университете Сарагосы. Служил военным врачом, директором музея Сарагосы. Профессор университета Валенсии (1883), Барселоны (1887), Мадрида (1892). С 1899 г. — директор Национального института гигиены, а с 1922 г. — Лаборатории биологических исследований (ныне Институт Кахаля).

Заложил основу нейронной теории, дал описание целого ряда нейронов и клеточных типов (интерстициальные клетки Кахаля), строения и развития спинного мозга, мозжечка и коры головного мозга, сетчатки, периферической нервной системы человека и позвоночных. Лауреат Нобелевской премии по физиологии или медицине (1906, совместно с К. Гольджи).



Сантьяго Рамон-и-Кахаль
(1852–1934)

Вильгельму Гису (1831–1904) принадлежат «эмбриологические» свидетельства в пользу структурной «автономности» нейронов — постепенный и неравномерный рост аксонов и дендритов делает гипотезу о возможном контакте между нервными клетками, в противовес системе анастомозов между ними, более вероятной, поскольку объекты, развитие которых независимо, имеют тенденцию сохранять свою самостоятельность и в дальнейшем.

Согласно наблюдениям Августа-Генри Фореля (1848–1931), разрушение тела нейрона или перерезка отходящего от него аксона приводит к дегенерации нервной клетки или ее частей, но не приводит к гибели соседних нейронов — процесс как бы «останавливается» в области межклеточного контакта, что, собственно, и служит подтверждением физической разделенности нервных клеток. В противном случае распространение процесса нейродегенерации можно было бы ожидать на все нейроны сети (участка мозга).

В 1891 г. немецкий гистолог Г. Вальдейер (H. Waldeyer) формулирует основное положение нейронной теории, согласно которой нейроны вступают в функциональную связь посредством контакта (соприкосновения) клеток друг с другом без создания какой-либо непрерывности их отростков, т. е. являются индивидуальными клетками нервной ткани с морфологической точки зрения. При этом нейрон определяется как структурно-функциональная единица нервной системы, состоящая из тела и отростков, посредством которых она связана с другими клетками (современное определение нейрона дополнено понятием о специфическом проявлении возбудимости последнего). Проведение нервного импульса при этом идет в направлении от дендритов к телу и далее к окончанию аксона (*закон динамической поляризации нейрона*).

Отдельные сторонники теории сети продолжали упорствовать в своих взглядах вплоть до начала эпохи использования электронных микроскопов. Именно их применение позволило окончательно убедиться в том, что мембраны контактирующих клеток разделены щелью, непосредственно связанной с интерстициальным пространством между нейронами. Как ни парадоксально, но одним из приверженцев теории сети был К. Гольджи, считавший, что синцитиальная организация создает надежную морфологическую основу для распространения возбуждения в нервной ткани.

В качестве признания вклада К. Гольджи и С. Рамон-и-Кахаля в изучение структуры нервной системы в 1906 г. Нобелевский комитет впервые в своей истории принял решение разделить премию по физиологии или медицине между этими двумя учеными.

С современных позиций основные идеи нейронной доктрины если и не устарели, то как минимум нуждаются в определенной ревизии, так как их догматичность очевидно не соответствует духу времени, подтверждения чему можно будет найти по ходу данного руководства.

1.1.2. ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ТЕЛА НЕРВНЫХ КЛЕТОК

Широта выполняемых функций порождает огромное морфологическое разнообразие нервных клеток. Вместе с тем существует ряд черт, особенно внутриклеточной организации, остающихся относительно неизменными в различных типах нейронов.

Нейрон состоит из тела и отходящего от него отростка (-ов) (рис. 7). Тело нервной клетки, называемое также перикарионом, содержит относительно крупное ядро (в отдельных случаях до 20 мкм в диаметре при средних размерах для большинства клеток 4—8 мкм). По сравнению с ядрами других клеток оно демонстрирует слабое сродство к основным красителям (базофилию), т. е. окрашивается весьма незначительно. Во многом это связано с тем, что ДНК находится в деконденсированном состоянии (мелкодисперстный хроматин) — в ядрах зрелых нейронов хромосомы не выявляются.

В мозге большинства млекопитающих существует два основных участка, в которых нейрогенез (образование новых нейронов из нейронных стволовых клеток посредством их митотических делений) происходит и у взрослых индивидумов — субгранулярная зона (subgranular zone, SGZ) зубчатой борозды гиппокампа и субвентрикулярная зона (subventricular zone, SVZ) полосатого тела.

Для многих нервных клеток характерно повышенное, по сравнению с нормальным (2с), содержание ядерной ДНК (кратное увеличение числа наборов хромосом) — полиплоидия. Она становится возможной благодаря

способности ядер к делению, происходящему без последующему карио-и/или цитокинеза, приводящего к формированию моно- или полиядерных клеток соответственно.

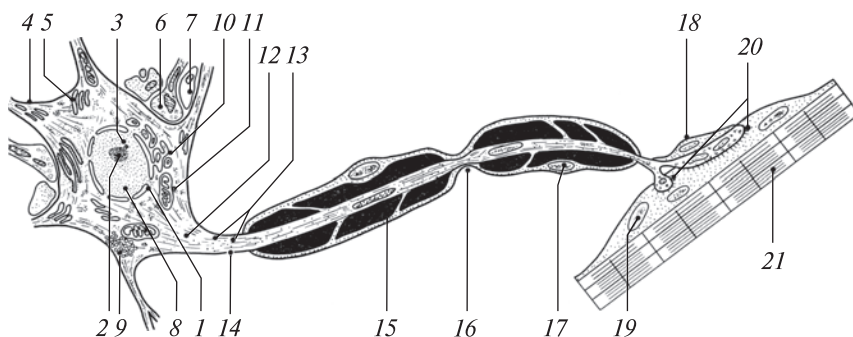


Рис. 7. Обобщенная схема внутриклеточной организации нейрона на примере нервно-мышечного соединения (по Шаде и Форду, 1976):

- 1 – ядро; 2 – ядрышко; 3 – сателлит ядрышка; 4 – дендрит; 5 – вещество Ниссля; 6 – синаптическое окончание; 7 – ножка астроцита; 8 – деконденсированная ДНК ядра; 9 – липофусцин; 10 – аппарат Гольджи; 11 – митохондрия; 12 – аксонный холмик; 13 – нейрофибриллы; 14 – аксон; 15 – миелиновая оболочка; 16 – перехват Ранвье; 17 – ядро шванновской клетки; 18 – немиелинизирующая шванновская клетка; 19 – ядро мышечной клетки; 20 – нервно-мышечный синапс; 21 – поперечно-полосатое мышечное волокно

В случае полиплоидии соматических клеток дополнительные копии ДНК образованы в отношении всех хромосом, что отличает ее от случаев анеуплоидии, когда увеличивается количество лишь части хромосом.

Известно, что некоторые нейроны, например вегетативных ганглиев, включают несколько (до 10) ядер. Некоторые крупные нейроны слизней содержат ДНК в количестве 10 000с, а гигантские, с диаметром тела 100 мкм и выше, нейроны моллюска *Aplysia* – до 200 000с (!)

Подобная «амплификация» генома дает клеткам, в том числе и нервным, комплекс преимуществ (в отличие от анеуплоидов, характеризующихся пониженной жизнеспособностью):

- возможность формирования крупных нейронов. «Обычная» клетка с диплоидным набором способна к двукратному увеличению своих линейных размеров за счет роста. Возрастание размеров клетки на порядок и более, как правило, ассоциируется с развитием полиплоидии. Такие большие по размерам структуры часто формируют внешний слой ткани (органа), обеспечивают иннервацию больших по площади участков (гигантские нейроны моллюсков);

Плоские субперинейральные клетки глии (subperineurial glia, SPG) нервной системы *Drosophila melanogaster* обеспечивают функционирование гемато-энцефалического барьера (подробнее о глии и выполняемых ею функциях см. разд. 2) за счет формирования между собой плотных контактов (рис. 8). В ходе онтогенеза значительно возрастает число нейронов, что приводит к увеличению размеров нервных ганглиев, в то время как число окружающих их клеток глии практически не изменяется (деление субперинейральной глии, сопровождаемое цитокинезом, неизбежно привело бы к нарушению целостности плотных контактов и функционирования гемато-энцефалического барьера). Благодаря полиплоидизации размеры SPG увеличиваются, что позволяет им продолжать «удерживать» внутри нервного ганглия возросшую нейронную массу без потери целостности межклеточных связей.

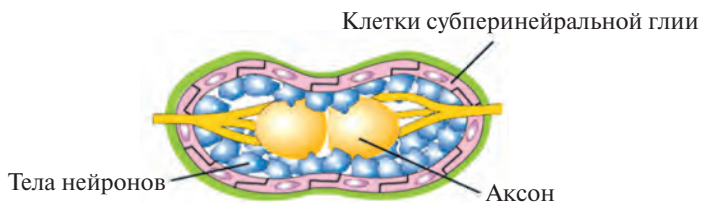


Рис. 8. Схема организации нервного ганглия у *Drosophila melanogaster*, содержащего клетки субперинейральной глии (по Ott-Weaver T. L., 2015)

- отсутствие митоза и клеточного деления дает возможность полиплоидным клеткам быть более активными в метаболическом отношении;
- крупная полиплоидная клетка занимает пространство ткани как гомогенная структура, а не как совокупность структур в случае более мелких клеток — полиплоидные клетки оказываются более стабильными, менее изменчивыми по сравнению с «делящимися», вынужденными постоянно пролиферировать клетками;
- клетки с множественными копиями генов более устойчивы к повреждениям и мутациям;
- в ряде полиплоидных клеток инактивируется апоптоз, что удлинняет время их жизни.

Возрастание размеров клеток (их ядер) в связи с развитием полиплоидии имеет и ряд недостатков. В частности, уменьшается соотношение объема ядра и площади поверхности ядерной мембраны (для сферы увеличение объема $\sim r^3$, а площади поверхности $\sim r^2$), что замедляет обмен содержимым между ядром и цитоплазмой. Возможно, именно по этой причине ядра многих полиплоидных клеток имеют плоскую, а не сферическую форму (сфера имеет наименьшую возможную поверхность при данном объеме — любое отклонение от сферической формы приводит к относительному увеличению поверхности).

Ядерный матрикс представлен различными белками (ламини А, В, С, белки MAR и др.), образующими многочисленные гранулы (25–30 нм в диаметре) и формирующими фибриллярную внутриядерную трехмерную сеть с ортогональной укладкой молекул. Они обеспечивают поддержание размеров и формы ядра клеток, прикрепление ДНК к ядерному матриксу.

Ламины являются одной из основных мишеней действия каспаз, специфических протеаз, активирующихся при апоптозе и необратимо разрушающих ядерный матрикс в ходе программируемой гибели клеток мозга.

В ядре находится 1–2 ядрышка, характеризующихся высокой степенью базофилии (рис. 9). Ядрышки содержат многочисленные белки (до 90 % его массы), а также РНК и ДНК. Крупные ядрышки обнаруживаются у активно синтезирующих белки клеток и являются центрами высокой метаболической активности в ядрах нейронов – размер ядрышка биохимически связан с его синтетической активностью. Размеры ядрышек нейронов весьма вариабельны – от небольших телец до крупных образований, целиком заполняющих ядро. Ядро окружено двухслойной ядерной мембраной (нуклеолеммой) толщиной 7–10 нм, содержащей перинуклеарное пространство (15–30 нм). Нуклеолема пронизана многочисленными порами (диаметром около 80 нм), предназначенными для селективного транспорта веществ между ядром и цитоплазмой. Количество поровых комплексов может изменяться в зависимости от метаболической активности клетки.

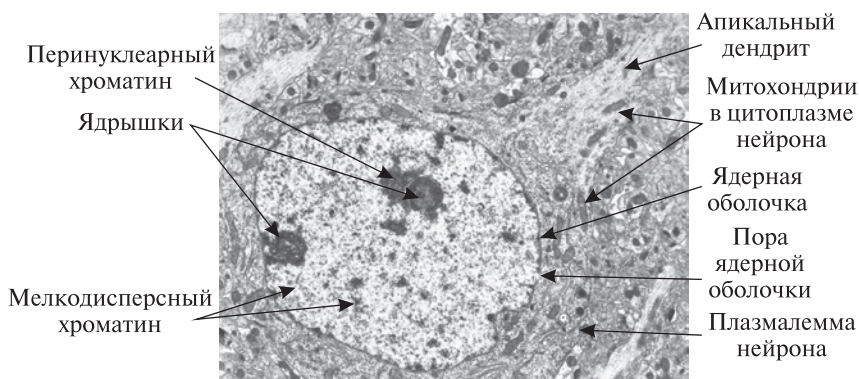


Рис. 9. Структура ядра пирамидной клетки (по Spacek, 2018)

В нуклеоплазме некоторых нейронов (кора головного мозга, симпатические узлы) имеется ряд дополнительных, не относящихся к ядрышкам включений – тельца Кахалья и тельца Барра. *Тельце Кахалья* – аргирофильное образование диаметром от 0,1 до 1,0 мкм округлой формы. Его специ-

фическим маркером является белок коилин. Взаимодействуя с ядрышком, обеспечивает процессинг малых ядерных и малых ядрышковых РНК, сборку рибонуклеиновых комплексов. *Тельце Барра* — овальная структура 0,5–2,0 мкм в диаметре, находящаяся вблизи ядрышка или примыкающая к нему. Это скопление хроматина отвечает за синтез рибонуклеопротеидов, особенно в период раздражения клетки.

Описанные в нейронах в 1903 и 1950 гг. соответственно тельца Кахаля и Барра не являются уникальными для нервных клеток структурами. В частности, тельца Кахаля отмечены и у растительных клеток. Тельце Барра, известное еще как половой хроматин, представляет собой инактивированную отцовскую Х-хромосому (из двух половых хромосом гомогаметного пола) в соматических клетках особей женского пола.

Цитоплазма нервных клеток (нейроплазма) содержит как «классические» внутриклеточные органеллы (митохондрии, рибосомы, аппарат Гольджи, эндоплазматический ретикулум, лизосомы, пигментные гранулы и др.), так и присущие только нейронам компоненты (вещество Ниссля, нейрофибриллы, синаптические пузырьки). Она окружена двухслойной оболочкой — плазматической мембранной (плазмалеммой), отделяющей внутреннее содержимое нейрона от внешней среды.

Нейрофибриллы представляют склеившиеся между собой при фиксации материала два компонента цитоскелета — нейрофиламенты и микротрубочки (см. далее), на которых и осаждается визуализирующее их азотнокислое серебро. С этих позиций нейрофибриллы можно рассматривать как артефакт изготовления препаратов нервных клеток.

Вещество Ниссля (тельце Ниссля, или тигроид) представляет собой скопления (пятна) базофильного вещества в цитоплазме нейрона различного размера и плотности (рис. 10, *а*). Названо в честь открывшего его немецкого гистолога Ф. Ниссля (Franz Nissl, 1860–1919).

Использование гистохимических техник в сочетании с электронно-микроскопическими наблюдениями позволило установить тонкую структуру указанных включений как мест интенсивного белкового синтеза. Оказалось, что тельца Ниссля состоят из уплощенных цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулума с розетками свободных рибосом, прикрепленных к ним с наружной стороны. Они ответственны за производство и освобождение белков, предназначенных для внутриклеточного использования.

Индивидуальные гранулы внеядерной РНК, соединенные с белком рибосомы, называются *гранулами Ниссля*. Базофильные красители (анилин, гематоксилин) вызывают окраску внеядерных гранул РНК за счет взаимодействия имеющегося у них отрицательного заряда с фосфатной группой рибосомальной РНК.

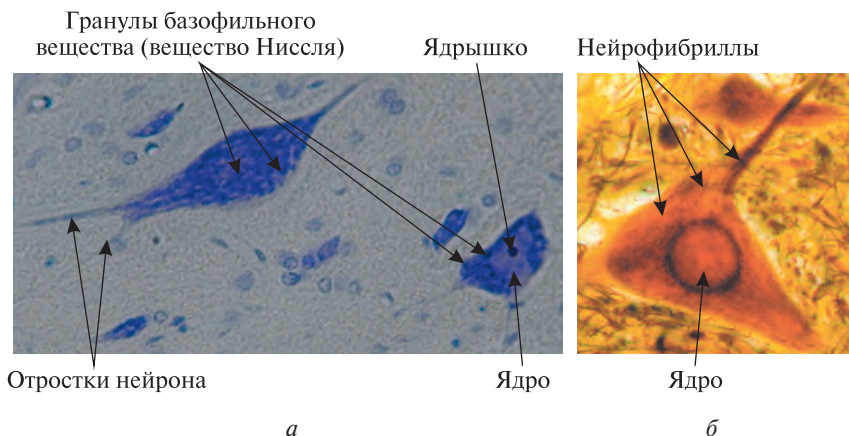


Рис. 10. Вещество Ниссля (*a* — окраска толудиновым синим, объектив $\times 40$) и нейрофибриллы (*б* — импрегнация серебром, объектив $\times 100$) в цитоплазме нейронов спинного мозга собаки (по Сидорову, 2019)

Размеры, форма и распределение телец Ниссля находятся в зависимости от типа нейрона и его функционального состояния. Кроме того, существуют различия в строении вещества Ниссля у разных животных.

Термин *хроматолиз* означает растворение и исчезновение телец Ниссля.

Еще в 1955 г. Л. Эйнарсон и Э. Грог (L. Einarson, E. Krogh) предложили классификацию функционального состояния нейрона в зависимости от степени базофилии его цитоплазмы, определяемой синтетической активностью телец Ниссля.

Согласно данным авторам, выделяют клетки:

- **хромонейтральные** — нейроны в «нормальном» состоянии с контрастно выраженным веществом Ниссля, что соответствует состоянию покоя или умеренной активности;
- **умеренно хромофильные** — более интенсивно окрашенные клетки, содержащие хорошо выраженное ядрышко и многочисленные базофильные частицы — свидетельство их несколько повышенной активности;
- **резко хромофильные** — очень интенсивно окрашенные нейроны, содержащие плотно упакованные темные тельца Ниссля наряду со снижением количества небазофильного вещества. Такие клетки принято считать физиологически неактивными — синтез нуклеиновых кислот и белков превышает потребность в них;
- **умеренно хромофобные** — в них отмечено снижение количества телец Ниссля на фоне увеличения ядерного хроматина, что характерно для состояния усиленной импульсной активности;

• **резко хромофобные** — окрашиваются бледно, базофильные гранулы в цитоплазме и ядре практически отсутствуют, что совпадает со снижением числа комплексов РНК — белок, наблюдаемым при длительном раздражении нейронов.

Различия в интенсивности окраски цитоплазмы нервных клеток позволили получить нейроморфологическое доказательство того, что «не все клетки “нейронного пула” одновременно находятся в состоянии функциональной активности»¹.

Нейрофибриллы образованы преимущественно промежуточными филаментами (нейрофиламентами); вместе с микротрубочками и микрофиламентами составляют основу цитоскелета нервной клетки; представлены не только в теле нейрона, но и в его отростках (рис. 10, б). Белки нейрофиламентов образуют гомо- или гетерополимеры 10 нм в диаметре, достигающие в длину нескольких микрометров.

Промежуточные филаменты различных клеток представлены белками, относимыми к 6 различным классам на основе особенностей их структуры и организации кодируемых их генов. Белки 1-го и 2-го класса — это *кератины*, представленные среди клеток эпителиев; 3-й класс — *виментин*, распространенный среди клеток мезенхимного типа, *десмин*, *периферин*, *кислый глиальный фибриллярный белок* (в клетках нервной ткани); 4-й — собственно *нейрофиламенты*; 5-й — ядерные *ламини*; 6-й — *нестин*, экспрессия которого преимущественно характерна для нейрональных стволовых клеток, где он вовлечен в регуляцию роста аксона в ходе нейрогенеза.

Изначально к протеинам нейрофибрилл относили легкий (68–70 кДа), средний (145–160 кДа) и тяжелый (200–220 кДа) белки. Затем в их состав был включен интернексин (66 кДа), существующий только в гомополимерной форме, и периферин (57 кДа), встречающийся в нейронах периферической нервной системы и центральных нейронах, отростки которых покидают пределы ЦНС, способный образовывать гетерополимеры с белками нейрофибрилл.

Пигментные гранулы (включения) имеют отчетливую окраску и поэтому хорошо различимы даже в световой микроскоп. В нейронах выделяют два основных типа таких структур. Первые из них содержат *нейромеланин* (меланин является одним из побочных продуктов биосинтеза катехоламинов), пигмент черного или темно-коричневого цвета, гранулы которого широко представлены в клетках черного вещества (*substantia nigra*), голубого пятна (*locus coeruleus*), нейронах спинномозговых и симпатических узлов. Вторые включают гранулы желто-зеленого, темно-оранжевого и желто-коричневого цвета, содержащие *липофусцин*. Аккумуляция пигментных гранул происходит с возрастом. Липофусциновые гранулы

¹Цит. по: *Шаде Дж., Форд Д.* Основы неврологии. М. : Мир, 1976. С. 148.

впервые появляются в нейронах спинного и продолговатого мозга человека в 7–8-летнем возрасте. В то же время при развитии нейродегенеративных заболеваний, носящих отчетливый возрастной характер, число пигментированных нейронов может снижаться, как в случае болезни Паркинсона, ассоциируемой с гибелью темно-окрашенных за счет меланиновых включений дофаминсодержащих клеток черного вещества среднего мозга.

Следует понимать, что распределение внутриклеточных включений между частями нейрона (телом и отростками разных типов) часто носит крайне неравномерный характер (см. след. раздел).

1.1.3. ОСНОВНЫЕ ЧАСТИ НЕЙРОНА

Отростки нейрона традиционно подразделяют на два типа — аксоны и дендриты. **Аксон** (от греч. *αξων* — ось), или нейрит, определяют как одинокый, редко ветвящийся отросток нейрона, проводящий нервный импульс *от* тела клетки. **Дендрит** (от греч. *dendron* — дерево) — короткий ветвящийся отросток нейрона, проводящий нервный импульс *к* телу клетки.

Несложно видеть, что согласно приведенным определениям различия между аксонами и дендритами носят помимо морфологического и функциональный характер. Так называемый закон динамической поляризации нейрона был постулирован еще С. Рамон-и-Кахалем и утверждает, что нейрон получает сигналы, приходящие к дендритам и/или телу клетки, и передает их в виде потенциала действия вдоль аксона в одном направлении — от тела нервной клетки. Однако такое положение дел не является догмой — известно, что и дендриты могут использоваться в качестве путей распространения нервного импульса от тела клетки, и аксоны «принимают» электрические сигналы от других, связанных с ними нейронов. Кроме того, не существует каких-либо морфологических структур, препятствующих или делающих невозможным распространение нервного импульса с периферии аксона к телу нейрона.

Разнообразие морфологических типов нейронов часто с трудом вписывается в крайне узкие рамки представленной классификации его отростков. Нет ничего удивительного в том, что терминология нейрона «обобщенного типа» претерпевает некоторые изменения. В частности, D. Bodian (1962) дал следующие определения основным частям нейрона позвоночных, основываясь преимущественно на их участии в проведении нервного импульса:

- **дендритная зона** — представлена рецепторной (постсинаптической) мембраной, формирующей выросты (дендриты), на которых сходятся синаптические окончания соседних нейронов либо дифференцирующиеся в структуры, трансформирующие воздействия внешней среды в электрический импульс (в современных представлениях это участок плазмалеммы,

содержащий то или иное число специализированных рецепторов, активация которых при помощи сигнальных молекул приводит к возникновению нервного импульса, как, например, в случае чувствительных нейронов вкусового и обонятельного анализаторов);

- **аксон** — одинокий, нередко ветвящийся и удлинённый вырост цитоплазмы, приспособленный для проведения нервных импульсов от дендритной зоны. Для него характерен постоянный диаметр и наличие оболочки, образованной клетками глии (очевидно, что последний критерий вряд ли можно назвать универсальным, принимая во внимание наличие свободных от клеток глии отростков, например среди межклеточных путей, формируемых нейронами в условиях культуры);

- **перикарион** — тело клетки, представляющее скопление цитоплазмы вокруг ядра и содержащее все необходимые для нормального функционирования клетки органеллы, обеспечивающее рост аксона и дендритов в онтогенезе, а также регенерацию отростков;

- **телодендрии аксона** — разветвленные и различно дифференцированные окончания аксона, характеризующиеся мембранной и цитоплазматической специализацией, связанной с формированием синапса или нейросекреторной активностью.

Результаты комплекса нейроморфологических работ начиная со второй половины XX века свидетельствуют о том, что фактически любой участок нервной клетки, если речь идет об «обобщенном типе нейрона», может служить как местом «приема», так и местом «передачи» нервного импульса от (к) соседней клетки (см. также классификацию синаптических контактов, представленную в подразд. 1.3).

1.1.4. АКСОН

Начальным сегментом аксона является небольшое расширение, примыкающее к перикариону, — **аксонный холмик**. Участки образующей его мембраны чрезвычайно насыщены потенциал-чувствительными натриевыми каналами ($\sim 100\text{--}200$ каналов/ мкм^2 против ~ 1 канала/ мкм^2 в области тела клетки), «удерживаемыми» в привязанном к цитоскелету состоянии посредством специфических белков (анкирин). Такое положение обуславливает легкое (относительно других участков тела и дендритов) возникновение нервного импульса — как следствие, аксонный холмик оказывается наиболее возбудимой частью нейрона. Кроме того, аксонный холмик может препятствовать латеральной диффузии трансмембранных белков и липидов мембраны, сохраняя их индивидуальный состав отдельным для сомы и аксона, т. е. обеспечивать структурные и основанные на них функциональные различия частей нейрона.

В последние годы начальный, немиелизированный сегмент аксона, как правило, примыкающий к структуре аксонного холмика, рассматривается в качестве более предпочтительного участка нейронной мембраны, отвечающей за возникновение нервного импульса. В частности, плотность потенциал-чувствительных натриевых каналов в немиелинизированных участках аксона (перехватах Ранвье, см. ниже) может достигать $\sim 1000\text{--}2000$ каналов/мкм², т. е. на порядок превышать таковую для области аксонного холмика.

Длина аксона может в десятки раз превышать его толщину, в среднем составляющую 1 мкм. Аксоны в составе блуждающего нерва человека достигают длины в 1 м. Еще более протяженные отростки формируют аналогичные структуры у животных значительных линейных размеров, например у жирафа. Диаметр аксона обычно прямо пропорционален размеру тела нейрона и зависит от функциональной принадлежности нервной клетки. Цитоплазма аксона содержит каналыцы гладкого эндоплазматического ретикулума, митохондрии, имеющие форму сильно удлинённых палочек, расположенных параллельно длинной оси аксона. Аксоны не содержат рибосом, за исключением начального сегмента. Как следствие, вещество Ниссля в них также не обнаруживается (о возможности локального синтеза белка в синаптических контактах см. подразд. 1.3).

Перерезка аксона, приводящая к дегенерации его периферической части, вызывает усиление синтетических процессов в теле нейрона, сопровождаемых увеличением числа митохондрий и смещением гранул вещества Ниссля по направлению к аксону.

В аксоне, и в особенности в его расширенных окончаниях, встречаются многочисленные мелкие пузырьки — синаптические везикулы (подробнее см. структуру химического синапса, изложенную в разд. 3). При этом митохондрии нервных окончаний образуют выраженные скопления. Однако основной структурный компонент аксона, обеспечивающий взаимосвязь сомы и периферических окончаний клетки, — это цитоскелет, представленный микрофиламентами, промежуточными филаментами (нейрофиламентами), количество которых предопределяет толщину аксона, а следовательно, и его функциональные свойства, а также многочисленными микротрубочками.

Микрофиламенты являются общим для животной и растительной клеток элементом цитоскелета, участвующим в построении трехмерного каркаса цитоплазмы и состоящим главным образом из белка *актина*. Традиционно принято различать две формы этого белка: глобулярную (*G*-актин) и фибриллярную (*F*-актин). Актиновая сеть внутри клетки — это высокодинамичная структура, способная к быстрым перестройкам. Мономеры актина способны объединяться в димеры и более устойчивые тримеры, служащие для дальнейшей полимеризации и наработки *F*-акти-

на. Процесс полимеризации АТФ-зависимый, однако может происходить и в присутствии негидролируемых аналогов АТФ. Для актиновых нитей характерна поляризация: интенсивно растущий участок — это «+», а медленно растущий «-» — конец соответственно. Состоящая из двух скрученных спиральных лент мономеров микрофибрилла относится к наиболее «тонким» элементам цитоскелета — ее диаметр составляет 6 нм.

Образование и последующая модификация актиновых путей в клетке происходят в том числе и под влиянием многочисленных актин-связывающих белков (фрагмин, профилин, бревин, фасцин, гелсолин и др.).

Изменения в композиции актиновой сети определяют морфологию преимущественно тела нейрона и его коротких отростков, дендритов, в особенности их специфических участков — шипиков (см. ниже). В аксонах актиновые филаменты сосредоточены в концевых участках, принимая участие в формировании и перестройках конуса роста аксона в ходе нейро- и синаптогенеза. Аксоны образуют нервные волокна, классификация которых основана на целом ряде факторов, включая наличие у них специфических оболочек, функциональные характеристики и т. п. (подробнее см. подразд. 1.2).

Микротрубочки — это полые неветвящиеся фибриллы диаметром до 25 нм, являющиеся линейными полимерами и начинающиеся от centrosомы, образующие у эукариот гибкую систему трактов, опосредующих перенос различных компонентов внутри клетки (рис. 11).

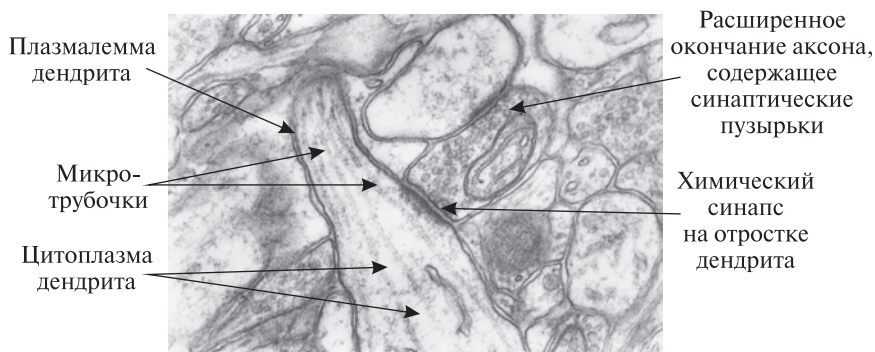


Рис. 11. Микротрубочки в цитоплазме дендрита (по Spacek, 2018)

Микротрубочки построены из многочисленных субъединиц, представленных молекулами тубулина, каждая из которых есть димер, состоящий из двух похожих глобулярных белков (α - и β - тубулина, имеющих одинако-

вую молекулярную массу — 55 кДа). Субъединицы тубулина организованы в протофиламенты, которые формируют полый цилиндр (13 протофиламентов), который, собственно, и есть микротрубочка.

Каждый протофиламент, а следовательно и микротрубочка, обладает выраженной полярностью (рис. 12).

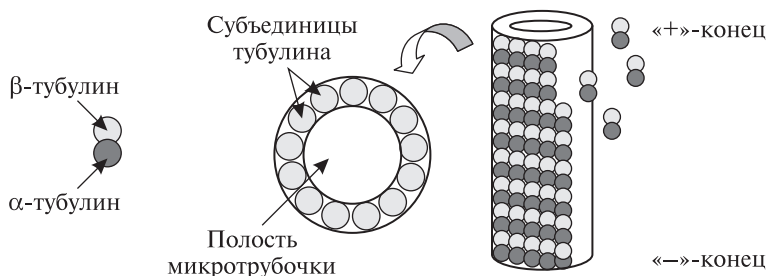


Рис. 12. Строение микротрубочки (схема) (по Сидорову, 2008)

В зависимости от того, какой белок находится на конце микротрубочки, различают «+»-конец (β-тубулин) и «-»-конец (α-тубулин). Эта полярность имеет функциональное значение — со стороны «+»-конца рост микротрубочек при наличии избытка тубулина происходит интенсивнее. В клетке постоянно происходят процессы разрушения и образования микротрубочек и, как следствие, новых путей транспорта. Рост микротрубочек происходит от расположенной рядом с ядром centrosомы, содержащей множество замкнутых кольцеобразных структур, состоящих из γ-тубулина, к которым микротрубочки присоединяются своим «-»-концом, оставляя свободным «+»-конец.

Важную роль в процессе роста микротрубочек играет ГТФ. ГТФ-связанные димеры тубулина обладают высокой способностью к полимеризации, что лежит в основе формирования ГТФ-колпачка на «+»-конце и роста микротрубочки. Напротив, гидролиз ГТФ до ГДФ приводит к уменьшению сродства молекул тубулина друг к другу и деполимеризации, т. е. разрушению микротрубочки. Заметим, что прикрепление некоторых «колпачковых» белков (*cap proteins*) к «+»-концу приводит к формированию стабильных микротрубочек, а следовательно, и путей транспорта веществ в клетке. Стабильные микротрубочки образуют и различные постоянные структуры клетки — цилии (волоски), жгутики и т. п.

Некоторые вещества (колхицин) предотвращают полимеризацию тубулина и образование микротрубочек, в то время как другие (таксол), напротив, препятствуют их распаду. В обоих случаях наблюдается нарушение протекания ряда субклеточных процессов, например деления.

1.1.5. АКСОННЫЙ ТРАНСПОРТ

Особую роль в переносе различных внутриклеточных органелл в нервные окончания играет аксонный транспорт. Это активный процесс, не опосредуемый обычной диффузией (рис. 13).

Первые указания на существование аксонного транспорта появились в 1948 г. (П. Вейс и Х. Хиско) (P. Weiss & H. Hiscoe), когда было показано, что наложение лигатуры на периферические нервы вызывает их набухание выше места перевязки.

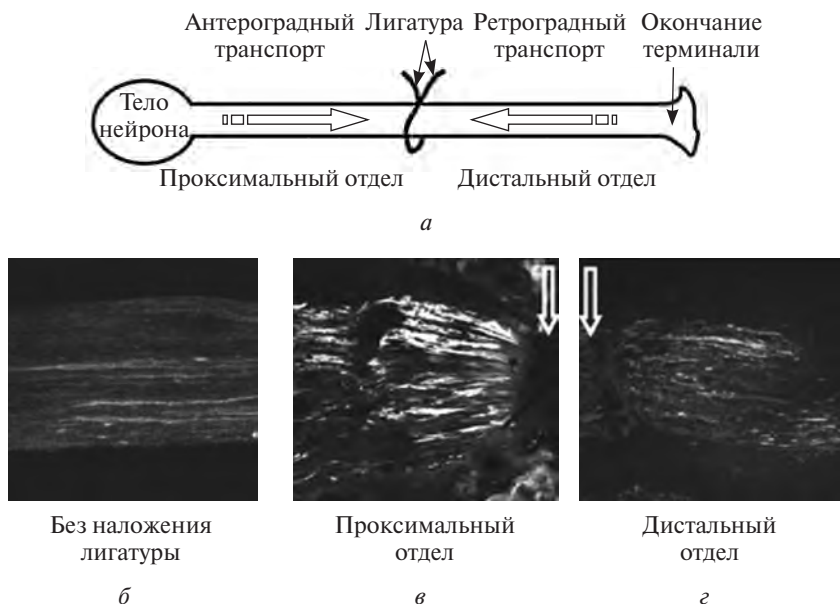


Рис. 13. Схема аксонного транспорта (а), движение (б) и накопление (в — выше, г — ниже места перевязки, обозначенного стрелкой) переносимых посредством аксонального транспорта компонентов в седалищном нерве (по Pfaff & Volkow, 2016)

В зависимости от направления движения переносимых компонентов различают:

- **антероградный** транспорт — движение по направлению к окончанию аксона, предназначен для транспортировки органелл и/или иных компонентов в область его терминалей, самостоятельно не способных к работе таких веществ. Так происходит доставка пептидных нейромедиаторов, синтез которых ограничен областями клетки, содержащих рибосомы, т. е. сомой, и прилежащей к ней дендритами;

• **ретроградный** транспорт — движение по направлению к телу клетки, дающий возможность перемещать различные регуляторные молекулы, например фактор роста нервов, в тело клетки, где они и реализуют свое действие за счет активации многочисленных ген-регуляторных белков, контролирующих паттерн экспрессии пула внутриклеточных сигнальных молекул.

В зависимости от скорости перемещения внутриклеточных органелл различают (табл. 1):

• **медленный** транспорт — посредством его перемещаются структурные белки, прежде всего тубулин микротрубочек и белки нейрофиламентов (медленный компонент *a*, 0,1–1 мм/сут), а также различные белки (порядка 200) и актин (медленный компонент *b*, 1–2 (максимум 6–8) мм/сут);

• **быстрый** транспорт — в этом случае происходит перенос различных везикул (фактически многочисленных белков, связанных с мембранными органеллами), в том числе и синаптических пузырьков, а также и митохондрий. Скорость передвижения может достигать 400 мм/сут, в среднем составляя 100–200 мм/сут.

Таблица 1

**Внутриклеточные компоненты,
переносимые посредством аксонного транспорта
(по Pfaff & Volkow, 2016)**

Переносимый компонент	Тип / средняя скорость перемещения	Мгновенная скорость перемещения	Возможное направление транспорта	Коэффициент заполнения
Везикулы, производные аппарата Гольджи	Быстрый / 50–400 мм/сут (0,5–5 мкм/с)	0,5–5 мкм/с	Антероградный	Высокий
Везикулы эндоцитоза, лизосомы, автофагосомы	Быстрый / 50–250 мм/сут (0,5–3 мкм/с)	0,5–3 мкм/с	Ретроградный	Высокий
Митохондрии	Промежуточный / <70 мм/сут (<0,8 мкм/с)	0,5–0,7 мкм/с	В обоих направлениях	Средний
Нейрофиламенты, микротрубочки, комплексы белков цитозоля	Медленный / 0,1–10 мм/сут (0,001–0,1 мкм/с)	0,2–3 мкм/с	В обоих направлениях	Низкий

Не сложно заметить, что мгновенная скорость перемещения переносимых компонентов практически не отличается в случае быстрого и медленного аксонного транспорта. Итоговые различия между двумя этими

типами обусловлены характером движения — непрерывным для быстрого и прерывистым, с остановками (паузами) в случае медленного транспорта (рис. 14). При этом величина коэффициента заполнения (*duty ratio*) отражает долю времени, проводимого переносимым компонентом в движении (высокий для быстрого, низкий для медленного транспорта).

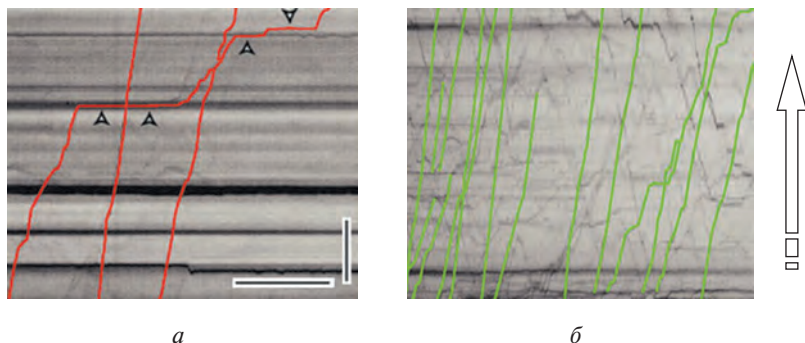


Рис. 14. Молекулярный кимограф, отражающий траекторию движения переносимых белков (*а* — α -синуклеин, *б* — синаптофизин) посредством медленного (*а*) и быстрого (*б*) аксонного транспорта.

Стрелка (справа) указывает направление переноса.

Треугольники (часть *а*) — момент остановки движения.

Калибровка по времени — 1 мин, по расстоянию — 10 мкм
(по Pfaff & Volkow, 2016)

Перемещение органелл и белков по сети микротрубочек осуществляется при помощи двигательных белков (*motor proteins*). Молекулы обоих семейств состоят из двух глобулярных АТФ-связывающих головок и хвоста, образованного тяжелыми и легкими цепями соответственно (рис. 15). При этом головки способны взаимодействовать с микротрубочками, а легкие цепи хвоста, соединенные с головками гибкими линкерными белками, обеспечивают прикрепление предназначенных для транспортировки органелл и отдельных белков.

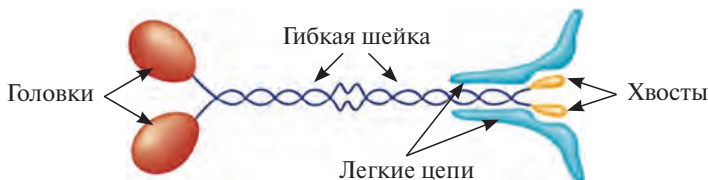


Рис. 15. Схематическое строение молекулы кинезина (по Pfaff & Volkow, 2016)

В настоящее время известно о существовании более десятка таких белков, принадлежащих к двум семействам (рис. 16):

- **кинезина** (*kinesins*) – белки этого семейства перемещаются в направлении «+»-конца микротрубочки, т. е. в сторону нервного окончания;
- **динеина** (*dyneins*) – белки этого семейства перемещаются в направлении «-»-конца микротрубочки, т. е. в сторону тела нейрона.

Белки семейства **миозина** (*myosins*) используются для перемещения внутриклеточных компонент вдоль микрофиламентов, т. е. по актиновым нитям цитоскелета.

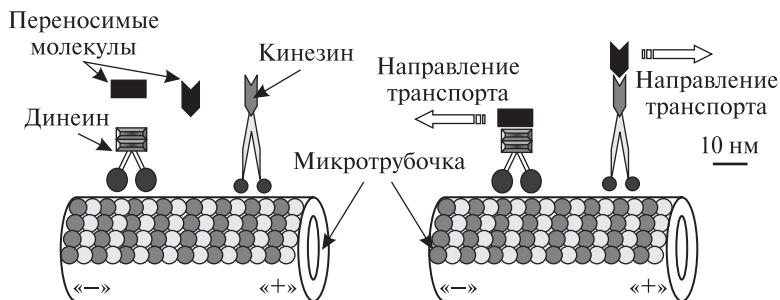


Рис. 16. Двигательные белки микротрубочек (схема)

Именно благодаря упорядоченной организации микротрубочек (вдоль длины аксона) белки семейства кинезина и динеина обеспечивают перемещения компонентов на дальние расстояния. В отличие от них белки семейства миозина ответственны за локальный внутриклеточный транспорт, поскольку ориентация значительно более коротких микрофиламентов неодинакова в разных участках аксона (дендрита и тела нейрона), а сами они, в зависимости от типа, способны двигаться как по направлению к «+», так и «-»-концу актинового волокна.

Используя энергию гидролиза АТФ, двигательные белки изменяют конформацию, прежде всего в области головок и линкерных участков шейки, что позволяет им перемещаться вдоль микротрубочки (рис. 17).



Рис. 17. Схема движения кинезина вдоль микротрубочки.

Головки кинезина – синий, α -тубулин – зеленый, β -тубулин – белый цвета. Направления движения головок, их соединение с АТФ (АТФ) и его гидролиз до АДФ (АДФ) и неорганического фосфата (Pi) указаны стрелками.

Длина калибровочной линии – 4 нм (по Pfaff & Volkow, 2016)

В ходе каждого «шага» происходит гидролиз одной молекулы АТФ, присоединяемой к передней головке белка, а задняя головка при этом переносится вперед на 16 нм (длина шага). При этом домен линкерного участка перемещается на 8 нм (размер шага), что соответствует расстоянию между двумя соседними димерами тубулина (длине одного димера тубулина). Затем новая молекула АТФ присоединяется (гидролизуется) к передней головке моторного белка, и цикл повторяется снова.

1.1.6. ДЕНДРИТЫ

Дендриты обычно более многочисленны в сравнении с «одиночными» аксонами. От тела нейрона часто отходят несколько дендритов, способных ветвиться в примыкающих к соме нервной клетки областях.

Площадь дендритов у клеток Пуркинье коры мозжечка достигает 250 тыс. мкм².

В отличие от аксона дендриты лишены миелиновой оболочки (см. подразд. 2.2). Их внутреннее содержимое, особенно в начальных, отходящих от тела нейрона участках, соответствует таковому для нейроплазмы — наличие митохондрий, канальцев гладкого и шероховатого эндоплазматического ретикулума и т. п. Большая часть плазмалеммы дендритов приходится на долю рецепторной мембраны, с которой контактирует множество нервных окончаний других нервных клеток. Увеличению площади «соприкосновения» клеток посредством синпатических контактов способствует образование специфических боковых выростов дендритов — шипиков (*dendritic spine* (-s) в англоязычной литературе).

Шипики в центральных нейронах мозга (мозжечка) впервые были описаны С. Рамон-и-Кахалем в конце XIX века, они представляют собой про-топлазматические выступы, окруженные плазмалеммой¹.

В их структуре выделяют узкую шейку, переходящую в расширенную головку (рис. 18). Они широко представлены в филогенетически молодых отделах нервной системы человека — пирамидных клетках новой коры, нейронах гиппокампа и базальных ядер (полосатого тела), нейронах коры мозжечка (клетки Пуркинье).

Плотность расположения шипиков составляет ~5 на 1 мкм длины плазматической мембраны при их объеме в 0,01–0,8 мкм³.

Подсчитано, что крупная пирамидная клетка коры содержит около 4 тыс., а некоторые ГАМК-ергические клетки стриатума (*medium spiny neurons*) — десятки

¹ Интересные сведения о возможном приоритете К. Гольджи в открытии дендритных шипиков можно почерпнуть из статьи: *Bentivoglio M. The Original Histological Slides of Camillo Golgi and His Discoveries on Neuronal Structure* [Electronic resours] // *Front. Neuroanat.* URL: frontiersin.org/articles/10.3389/fnana.2019.00003/full (date of access: 13.11.2019).

тысяч шипиков (еще больше их, порядка 100 тыс., среди клеток Пуркинье), представляющих, впрочем, не стационарные, а высокодинамические структуры — их количество способно изменяться в зависимости от функциональной активности, присущей данному участку мозга.

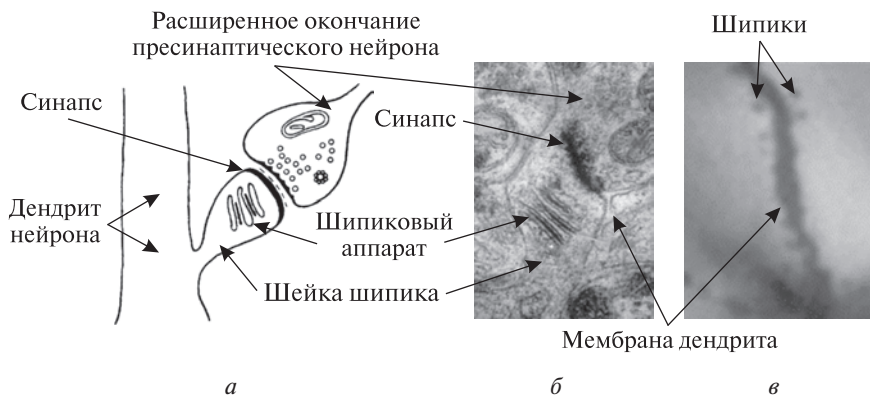


Рис. 18. Схема (а), электронно-микроскопическая фотография (б, по Namlyn, 1962) дендритного шипика и шипики в нейронах коры кролика (препарат из лаборатории К. Гольджи, конец XIX века) (в, по Bentivoglio e. a., 2019)

Выделяют различные формы шипиков (рис. 19), имеющие и варианты переходов между ними:

- тонкие / длинные тонкие (*thin / long thin*): общей длиной до 1 и 2 мкм соответственно (иногда говорят о едином тонком (*thin*) типе);
- пузыревидные (*stubby*): соотношение длина : ширина меньше 1;
- грибовидные (*mushroom*): ширина более 0,6 мкм;
- ветвистые (*branched*): содержат две и более головок.



Рис. 19. Формы шипиков (по Risher e. a., 2014):
а — схема типов шипиков;
б — шипики пирамидного нейрона коры мыши.
Цветовой код стрелок (б) соответствует окраске форм шипиков (а)

Шипики по типу филоподий (*filopodia*), для которых характерны тонкие и длинные, более 2 мкм, выпячивания без выраженной головки, обычно не относят к самостоятельному типу, считая их ранней стадией формирования шипикового отростка.

Шипики способствуют компартментализации нейрона, степень которой преимущественно зависит от длины шейки шипика. Телоденрии аксонов соседних нейронов (их пресинаптические терминали) связаны посредством специализированных белков межклеточных соединений (кадгеринов) с дендритными шипиками, что способствует их удержанию друг с другом в единой структуре синаптического контакта). Расположенная под нервной терминалью мембрана шипика относится к постсинаптической, содержащей комплекс белков, образующих так называемые **постсинаптическую плотность** (*postsynaptic density*).

Подавляющее число (~95 %) шипиков пирамидных нейронов новой коры получают возбуждающие синаптические входы, т. е. участвуют в формировании возбуждающих синапсов.

Компоненты постсинаптической плотности могут образовывать морфологические структуры двух типов: в виде пятен (*macular*) и продырявленные (*perforated*) при выраженном разнообразии в пределах последней группы (рис. 20).



Рис. 20. Схема расположения компонентов постсинаптической плотности на дендритном шипике (а) и 3D-реконструкция участка дендрита, содержащего шипики (б) (по Pfaff & Volkow, 2016).

Участки постсинаптической плотности отмечены красным цветом, дендритные шипики, не образующие синаптические соединения, — стрелкой. Длина калибровочной линии в части б рисунка — 2 мкм

Помимо рецепторов (глутаматных, AMPA и NMDA подтипов, тирозинкиназных, включая нейротрофический фактор мозга, brain derived neurotrophic factor или BDNF) к постсинаптической плотности относят

и комплекс поддерживающих (scaffold) белков, кальмодулин и различные протеинкиназы (кальмодулинзависимая протеинкиназа II, CaMKII; протеинкиназы C и A, PKC, PKA; протеинфосфатаза-1, PP-1, тирозинкиназа Fyn), а также потенциал-чувствительные натриевые, калиевые, кальциевые каналы, что предполагает высокую степень автономности головок шипиков, вероятно, способных к самостоятельной генерации электрических сигналов. Для шипиков характерна и везикулярная активность — наличие в их составе «гладких» пузырьков (везикул) является установленным экспериментальным фактом.

Шипики содержат актин, тубулин, а также белки, ассоциированные с микротрубочками, что предопределяет возможность быстрого изменения их формы и объема, а следовательно, изменения электрических свойств постсинаптической мембраны и всего синаптического соединения в целом, а также их числа, способного происходить в течение секундного (минутного) интервала. Модификация формы и числа шипиков зависит как от внутренних процессов, протекающих в собственно нейроне, так и внешних, обусловленных синаптической активностью, т. е. степенью стимуляции соответствующих рецепторов постсинаптической мембраны шипика.

Около 10–20 % дендритных шипиков пирамидальных клеток новой коры могут спонтанно исчезать, хотя большие «грибовидные» структуры оказываются достаточно устойчивы к перестройкам.

Нейроплазма дендритного шипика включает и *шипиковый аппарат* (Gray, 1959) — уложенные друг на друга плоские цистерны и мембраны эндоплазматического ретикулума, содержащие полирибосомы, используемые для трансляции РНК и последующего локального синтеза белка. Формирование шипикового аппарата зависит от наличия специфического, связанного с актином белка — *синаптоподина*. Кроме того, мембрана эндоплазматического ретикулума содержит рианодиновые рецепторы (RyR) и рецепторы к инозитолтрифосфату (IP_3R), активация которых приводит к выходу ионов Ca^{2+} из этого его внутриклеточного депо, а также ионные помпы (кальциевые помпы гладкого эндоплазматического ретикулума, SERCa), обеспечивающие «обратное» закачивание ионов Ca^{2+} в цистерны эндоплазматической сети.

Свободные ионы Ca^{2+} относятся к важнейшим внутриклеточным регуляторам. Их взаимодействие с различными кальцийсвязывающими белками (*calcium binding proteins*, CBP), основным из которых является кальмодулин, приводит к активации целого спектра протеинкиназ (например, CaMKII), обуславливающих в том числе и динамическую модификацию дендритных шипиков.

1.1.7. КЛАССИФИКАЦИЯ НЕРВНЫХ КЛЕТОК

Существуют огромное число нейронов, отличающихся размерами и формой. В нервной системе человека различия в объеме разных клеток достигают двух порядков — от 700 мкм^3 для тел клеток зерен мозжечка, относящихся к самым мелким, но зато и к одним из самых многочисленных нейронов мозга, до 70 тыс. мкм^3 в случае двигательных нейронов передних рогов спинного мозга.

Диаметр тел некоторых гигантских нейронов моллюска *Aplysia* (клетка R2) достигает 1,1 мм при размере конуса роста аксона 500–600 мкм , т. е. такие клетки видны невооруженным глазом. Диаметр отдельных отростков нейрона (гигантские аксоны кальмара) составляет около 1 мм. В центральной нервной системе человека одними из самых крупных являются гигантские пирамидные клетки V слоя коры больших полушарий — клетки Беца, диаметр сомы которых достигает 100 мкм . Диаметр сомы ряда нейронов беспозвоночных (*Caenorhabditis elegans*) составляет всего 1–3 мкм .

Нейроны могут быть классифицированы на основании как морфологических, так и функциональных характеристик (в самом широком понимании этих терминов).

Морфологические типы нейронов

Структурная классификация основана на количестве (числе) отростков, отходящих от тела клетки. В соответствии с этим выделяют:

- **униполярные** нейроны — от их тела отходит только один отросток, обычно определяемый как аксон (рис. 21, *a*). Как правило, относятся к чувствительным клеткам, расположенным за пределами спинного и головного мозга, если речь идет о нервной системе человека.

Клетки этого типа окружены плотной капсулой из глиальных элементов (см. разд. 2). По данным некоторых авторов (Шаде и Форд, 1976), они имеют два отростка, сливающихся вблизи тела клетки.



Рис. 21. Форма сенсорных нейронов (по Шаде и Форду, 1976):
a — униполярный; *б* — псевдоуниполярный; *в* — биполярный

Обычно они связаны с сенсорными модальностями (болевая, температурная, тактильная, проприоцептивная чувствительности). Встречаются в сетчатке глаза (амакриновые клетки), а также в обонятельных луковицах (межклубочковые нейроны).

Примечательно, что на основании морфологии дендритов различают свыше 30 (!) различных типов амакриновых клеток.

Аксоны униполярных нейронов беспозвоночных сохраняют способность к ветвлению, что позволяет им образовывать многочисленные контакты с отростками других нервных клеток в области нейропиля;

Нейропиль (от *нейро-* и греч. *pilos* — войлок) — область нервной системы, содержащая преимущественно немиелинизированные аксоны и дендриты нейронов, а также отростки глиальных клеток и кровеносные сосуды (при необходимости), формирующие участок с большой плотностью синапсов и практически не включающие тела нервных клеток. Характерен для нервных ганглиев беспозвоночных, в которых тела нейронов расположены на поверхности, а взаимодействие между их отростками осуществляется в «глубине» сферического по форме нервного узла. Классический нейропиль в мозге млекопитающих входит в состав неокортекса и обонятельных луковиц. Считается, что в этих участках суммарный объем нервных проводников (аксоны, дендриты) составляет около 60 % общего объема серого вещества.

- **псевдоуниполярные** нейроны — как и в случае униполярных клеток, от их тела отходит один отросток (аксон), распадающийся на две ветви (рис. 21, б). Одна из них, периферическая, выступает, как правило, в качестве рецепторного окончания, а другая, центральная, достигает центральных нейронов, формируя с ними синаптические контакты. В нервной системе человека они широко представлены среди чувствительных нейронов спинномозговых ганглиев и сенсорных узлов черепных нервов (рис. 22);

Таким образом, псевдоуниполярные нейроны представляют собой пример нервных клеток, у которых аксон выполняет в том числе чувствительную функцию, обеспечивая проведение нервного импульса к телу клетки.

- **биполярные** нейроны — клетки этого типа имеют два разных отростка, аксон и дендрит (рис. 21, в). В этом случае дендрит представляет собой чувствительный отросток, воспринимающий внешнее по отношению к клетке воздействие, а аксон выступает в качестве двигательного волокна, передающего нервный импульс к нейронам центральной нервной системы. Нейроны такого типа, в частности, характерны для зрительного, слухового, вкусового и обонятельного анализатора высших позвоночных, включая человека;

Истинные рецепторные клетки (палочки или колбочки сетчатки) также могут быть отнесены к нейронам биполярного типа. В этом случае их светочувствительный отросток (собственно палочка или колбочка) представляет собой

дендрит, а отходящий от тела короткий отросток — аксон. Последний, в свою очередь, вступает в контакт с биполярными клетками сетчатки, имеющими более «унифицированные» по форме отростки и характерные для нейрона признаки.

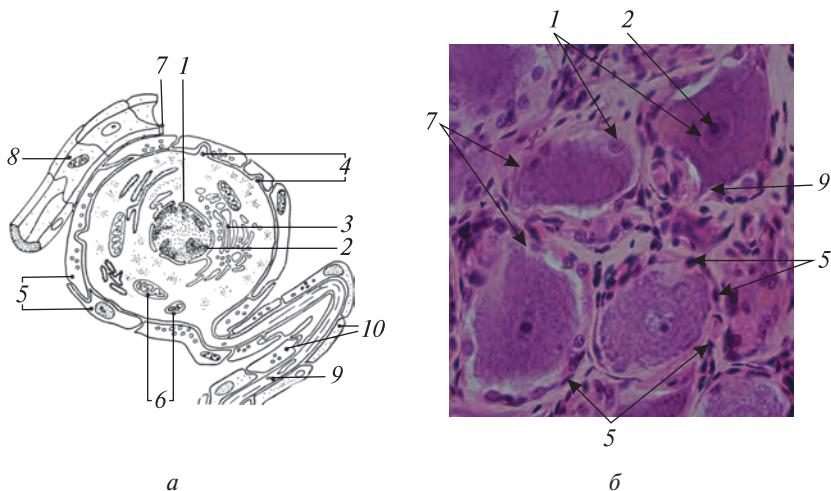


Рис. 22. Сенсорные нейроны спинного ганглия:

а — схема строения (по Шаде и Форду, 1976);

б — тела нейронов и клетки глии (окраска гематоксилин-эозин; объектив $\times 40$);

1 — ядро; 2 — ядрышко; 3 — аппарат Гольджи; 4 — «парафиты»;

5 — спутничные клетки глии; 6 — митохондрии; 7 — базальная мембрана;

8 — капилляр; 9 — отросток нейрона; 10 — спутники аксона

Наличие миелиновой оболочки вокруг длинных дендритов чувствительных нейронов (суть биполярных клеток) — это пример определенной условности используемых классификаций отростков нервных клеток. Фактически дендритом он становится из-за применения функционального критерия, в то время как одни морфологические особенности (за исключением топографии такого отростка) не позволяют дать ему точного определения.

• **мультиполярные нейроны** — клетки с одним аксоном и несколькими дендритами. Традиционно считается, что дендриты выступают в роли проводников импульса к телу клетки, а аксоны — от нее, однако напомним, что одностороннее проведение нервного импульса — это свойство химических синаптических контактов, а не проводников электричества, в качестве которых выступают отростки нервных клеток. Такая конструкция мультиполярных нейронов делает их идеальными для использования в качестве центральных, т. е. относящихся к структурам центральной нервной системы, клеток, способных к восприятию целого комплекса нервных импульсов,

поступающих по разным нервным путям, их последующей интеграции и передаче другим нейронам сети или эффекторным структурам. В случае если отдельные отростки таких нейронов трудно дифференцировать друг от друга, используют термин *изополярные* (клетки), а если легко — *гетерополярные* (клетки).

Иногда в качестве отдельного типа нервных клеток выделяют **безаксонные нейроны** (*anaxonic neuron*), подразумевая под этим мультиполярные структуры, у которых аксон не отличается от дендритов или состоящие из отростков одного типа, т. е. только дендритов. Они встречаются как у позвоночных, так и у беспозвоночных животных и относятся к центральным нейронам молчащего типа.

Именно мультиполярные нейроны характеризуются чрезвычайным разнообразием размеров и форм, на чем и основано его дальнейшее разделение на группы (рис. 23).

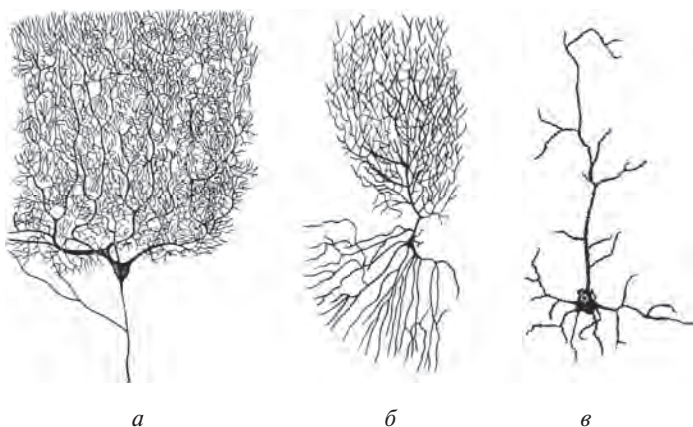


Рис. 23. Мультиполярные нейроны

головного мозга человека (по Шаде и Форду, 1976):

a — клетка Пуркинье коры мозжечка; *б* — клетка Гольджи коры мозжечка;

в — пирамидная клетка коры больших полушарий.

Относительные размеры клеток не соблюдены

Еще К. Гольджи в работах второй половины XIX века указал на существование мультиполярных нейронов двух типов, получивших впоследствии названия нейронов *Гольджи 1-го* (*Golgi type I*) и *Гольджи 2-го* (*Golgi type II*) *типа*. Первые из них характеризуются длинными аксонами, выходящими за пределы серого вещества в случае нервной системы человека, т. е. простирающиеся на значительные расстояния от тела клетки. К ним относятся гигантские пирамидные нейроны коры больших полушарий, клетки Пуркинье мозжечка, двигательные нейроны передних рогов спин-

ного мозга, формирующие пирамидные пути, тормозные входы к ядрам мозжечка и двигательные связи с поперечно-полосатой мускулатурой тела соответственно. Нейроны Гольджи 2-го типа, напротив, отличается короткий аксон, отвечающий за установление локальных связей, как правило, не покидающий пределы коры (например, клетки зерна мозжечка).

Клетки Гольджи 1-го и 2-го типа широко представлены и среди нейронов беспозвоночных. Основываясь на результатах сравнительно-нейроморфологических наблюдений, С. Рамон-и-Кахаль высказал предположение, что в ходе эволюции (мозга) увеличивается число клеток 2-го типа.

Среди мультиполярных нервных клеток выделим следующие основные формы (рис. 24):

- **пирамидные** — составляют ~60–70 % всех нервных клеток коры больших полушарий. Их тело конической формы, как правило, с одним апикальным (направлен под прямым углом к поверхности коры) и множеством базальных (идущих горизонтально или косо в восходящем и нисходящем направлениях) дендритов (рис. 24, *а*). Поверхность дендритов существенно увеличена за счет многочисленных шипиков;

- **веретенообразные** — их крупное, вытянутое тело переходит в единственный апикальный аксон, а с противоположного конца отходит оди-
ночный, впоследствии достаточно разветвленный, дендрит (рис. 24, *б*);

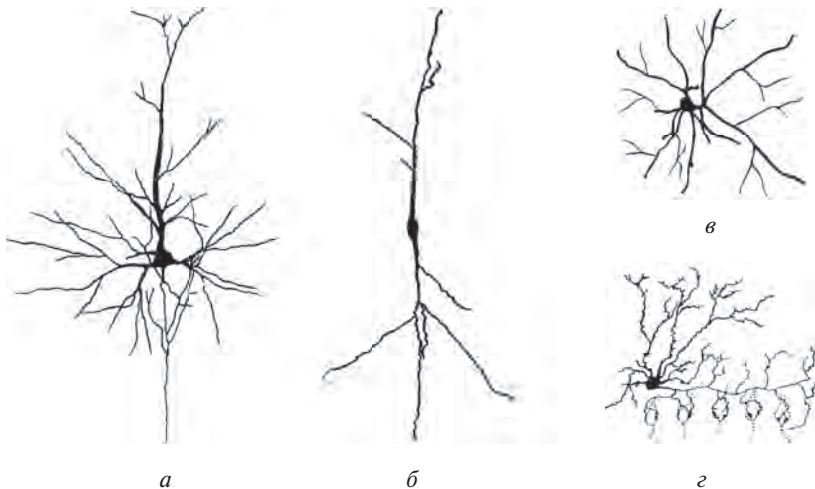


Рис. 24. Мультиполярные нейроны коры больших полушарий (по Шаде и Форду, 1976):
а — пирамидная; *б* — веретенообразная; *в* — звездчатая; *г* — корзинчатая клетки.
 Относительные размеры клеток не соблюдены

• **звездчатые** — составляют ~20–25 % от всех нейронов коры. Дендриты отходят от тела в радиальном направлении и не содержат шипиков (рис. 24, в);

• **корзинчатые** — составляют ~20–25 % от общего числа нейронов коры. Их малоразветвленные аксоны образуют небольшие выросты в виде корзин на некотором расстоянии друг от друга вдоль всей длины аксона (рис. 24, г). Различают три типа корзинчатых нейронов коры — малый, гнездовой и большой, отличающихся длиной аксона, а следовательно, и характером взаимосвязи с окружающими клетками коры.

Хотя эти типы отнюдь не исчерпывают все возможные формы клеток, среди которых можно упомянуть многоугольные, круглые, овальные, гранулярные (зернистые) и др. — насчитывается около 60 различных вариантов. Некоторые нейроны настолько своеобразны в своем внешнем строении, что их предпочитают выделять в отдельные клеточные типы — клетки Пуркинье, Люгаро, Кахаля, Ретциуса, Реншоу и т. п. Помимо уникальных морфологических характеристик они характеризуются и специфическими функциональными чертами.

Размеры (диаметр) тела нейронов также колеблются в достаточно широких пределах — от примерно 4–5 мкм до 150 мкм и более в случае отдельных видов. Это дает возможность классифицировать нервные клетки и по данному признаку, однако часто такие описательные термины, как мелкий (крупный) и т. п., не всегда имеют четкое определение или это определение фактически волюнтаристически введено в нейроморфологическую практику. Как следствие, одни и те же нейроны могут быть отнесены разными группами исследователей к клеткам разных размерных классов. Общепризнанного деления нейронов по размерам не существует, тем не менее, основываясь на имеющихся в литературе данных, различают:

- мелкие — диаметр сомы до 20 мкм;
- средние — диаметр тела от 20 до 40 мкм;
- крупные — диаметром от 40 до 60 мкм;
- гигантские — свыше 60 мкм.

Следует принимать во внимание и тот факт, что одни и те же нейроны, например пирамидные клетки коры или клетки Пуркинье мозжечка, могут различаться по размерам друг от друга в зависимости от вида, например нейроны человека и кошки, а также вследствие их исходного разнообразия. Кроме того, представленное деление основывается на опыте изучения нервной системы млекопитающих и человека, в то время как среди представителей беспозвоночных можно выделить как ультрамелкие клетки с диаметром сомы около 1 мкм, так и сверхгигантские нейроны, размер которых превышает 200 мкм.

Миниатюризация размеров животного (размер тела *Megaphragma caribea* — всего 170 мкм, что меньше диаметра ряда нейронов у моллюсков) достигается в том числе и за счет уменьшения размеров нервной системы, в основе которой лежит снижение объема нейроплазмы, исчезновение ядра и даже тела нервной клетки (в этом случае нейронная интеграция осуществляется между сохраняющимися жизнеспособными отростками нейронов в нейропиле).

Интересно, что размеры нейронов связаны с их общим числом в мозге — чем больше нервных клеток, тем меньше их размер (справедливо как для позвоночных, так и беспозвоночных организмов), а увеличение числа нейронов коррелирует с линейными размерами тела животного: перокрылки (*Priliidae*) ~40 тыс., комнатная муха (*Muscidae*) ~340 тыс., рабочая пчела (*Apis*) ~850 тыс., таракан (*Blattellinae*) ~1 млн нейронов.

Мозг осьминога насчитывает около 500 млн нейронов, что почти в 7 раз больше числа нервных клеток в мозге мыши, однако подавляющее большинство из них очень мелкие, с диаметром сомы в несколько мкм.

Гистохимическая классификация основывается на типе используемого нейроном нейромедиатора или нейромодулятора — химических веществ, используемых в качестве сигнальных молекул преимущественно в синапсах химического типа. Их разделение на группы совпадает с классификацией нейромедиаторов и нейромодуляторов (подробнее о нем, а также трудностях, возникающих при таком разделении, см. подразд. 3.1). В соответствии с этим различают холин-, дофамин-, ГАМК-, пептид-, серотонинэргические и т. д. нейроны. Однако такой подход к классификации нервных клеток имеет свои особенности, связанные с так называемым принципом Дэйла (см. подразд. 3.1) и экспериментальными доказательствами многочисленных случаев одновременного использования нескольких сигнальных молекул для передачи сигнала в химических синапсах — комедиаторов (АТФ в холинергических нервно-мышечных синапсах, нейропептиды в синапсах симпатических ганглиев, ГАМК и глицин в интернейронах спинного мозга позвоночных и т. п.).

Кроме того, нейроны могут быть охарактеризованы по их рецепторному аппарату, т. е. по наличию у них специфических белковых структур, предназначенных для детектирования сигнальных молекул — холин-, дофамин-, ГАМК- и т. д. рецепторные клетки. Однако, как и в случае с эргичностью нервных клеток, один и тот же нейрон может содержать несколько типов рецепторов, качественный и количественный характер экспрессии которых может претерпевать видимые изменения с течением времени и в зависимости от функционального состояния клетки, что делает гистохимический подход не в полной мере пригодным для строгого отнесения того или иного нейрона к определенной «химической» группе.

Функциональные типы нейронов

Функциональные свойства нервных клеток во многом предопределяются их морфологическими характеристиками. Следует отчетливо понимать, что геометрия нейрона (размеры и форма тела, конфигурация, количество и длина отростков) напрямую формирует электрические характеристики его мембраны (сопротивление, ёмкость), определяющие возможность как возникновения нервного импульса, так и его проведения по отросткам к их окончанию. В свою очередь, от химической природы нервной клетки зависит характер ее взаимодействия с другими нейронами, мышечными или железистыми клетками.

Разумеется, изложенное выше не отменяет ключевую роль трансмембранных белков плазмалеммы (ионных каналов) в реализации основных функциональных свойств нервных клеток.

Исходя из выполняемых функций, нейроны подразделяются:

- на **чувствительные** (рецепторные или афферентные) – воспринимают сигналы из внешней либо внутренней среды и передают возникающие в них нервные импульсы от органов и тканей к центральной нервной системе. Тела чувствительных нейронов обычно располагаются за пределами ЦНС (в случае человека – в ганглиях периферической нервной системы, например, спинномозговых узлах). Как правило, они биполярны в том или ином виде (истинно биполярные клетки, или псевдоуниполярные), хотя униполярные клетки среди них не редкость (см. выше). Нервное окончание таких нейронов, расположенное на периферии (дендрит в классическом понимании этого термина), представляет собой рецептор (рецепторное окончание). Среди них выделяют:

- **экстерорецепторы**, воспринимающие раздражение из внешней среды и расположенные в коже и слизистой оболочке, органах чувств;

- **интерорецепторы**, реагирующие на изменение химического состава внутренней среды и давления;

- **проприорецепторы**, иногда относимые к разновидности интерорецепторов, предназначенные для детекции механических стимулов, связанных с растяжением в мышцах, сухожилиях, связках, фасциях и суставных капсулах.

Морфологически рецепторные нервные окончания разделяют:

- на **свободные**, обладающие низкой специфичностью восприятия стимула и представляющие собой отросток нейрона (дендрит и его терминальные ветви), свободно расположенного между клетками того или иного органа. Относятся к первичным рецепторам;

- **несвободные**, формирующие отдельный орган, состоящий из дендрита и окружающего его клеток. Это окружение может быть представле-

но как специализированными (рецептирующими) клетками, преобразующими энергию внешнего воздействия, а активация нервного волокна происходит благодаря выходу нейромедиатора в области формируемого синаптического контакта (вторичные рецепторы), так и опорными структурами (терминальными глиоцитами), способствующими передаче внешнего сигнала к окончанию дендрита. Примером первой группы (неинкапсулированные рецепторы) могут служить расположенные в коже осязательные мениски (клетки Меркеля), обеспечивающие тактильную чувствительность. Вторая группа — это инкапсулированные рецепторы давления в коже и во внутренних органах, известные как тельца Фатера — Пачини;

В зависимости от модальности (вида) воспринимаемого раздражения различают механо-, хемо-, фото-, термо-, электро- и т. п. рецепторы.

- **вставочные** (замыкательные, ассоциативные, кондукторные или интернейроны), предназначенные для передачи возбуждения с чувствительного на двигательный нейрон. Их тела и отростки располагаются в пределах ЦНС. Повышение числа вставочных нейронов, организованных в сложные клеточные сети, представляет собой магистральный путь эволюции нервной системы. Так, в ряде участков мозга позвоночных, хорошо изученных в клеточном отношении, — мозжечке, стволе мозга, зрительной зоне коры больших полушарий, гиппокампе — при наличии немногочисленных сенсорных входов и моторных выходов доминирование интернейронных сетей не вызывает сомнений. Интернейроны доминируют в составе нервной системы любого животного. У человека на их долю приходится 99,98 % всех клеток мозга, в то время как общее количество мотонейронов (см. далее) составляет всего 2—3 млн;

- **двигательные** (эффекторные, эфферентные или мотонейроны), обеспечивающие передачу нервного импульса к рабочим органам, точнее, к находящимся в их составе скелетным и гладким мышцам, железистым клеткам. Тела таких клеток располагаются либо в ЦНС (например, мотонейроны передних рогов спинного мозга, иннервирующих поперечно-полосатую мускулатуру стенки тела), либо на периферии (постганглионарные нейроны симпатических и парасимпатических нервных узлов, обеспечивающих двигательный контроль за гладкой мускулатурой стенок внутренних органов). Аксоны таких нейронов способны простирались на значительные расстояния в виде нервных волокон. Это классические мультиполярные клетки с развитым дендритным аппаратом, на котором сходятся аксоны многочисленных интернейронов. По приблизительным подсчетам, на каждой двигательной клетке высших млекопитающих конвергирует до 10 тыс. синаптических окончаний.

Как и другие системы классификации, функциональное разделение нейронов на отдельные типы тоже сталкивается с определенными трудностями. Поясним это на примере двигательного звена вегетативного рефлекса, который определяется как двухнейронный путь. Тело *первого двигательного (преганглионарного)* нейрона расположено в боковых рогах спинного мозга, а его отросток формирует синаптический контакт с телом *второго двигательного (постганглионарного)* нейрона, непосредственно связанного с обслуживаемым внутренним органом и расположенного в вегетативных узлах за пределами ЦНС. Следуя букве приведенных определений, первый двигательный нейрон, с одной стороны, является вставочным, а вовсе не двигательным, как это отражено в его названии, поскольку обеспечивает передачу возбуждения на истинный двигательный нейрон. С другой стороны, к таковым (вставочным) не относится, поскольку его отростки покидают пределы ЦНС в отличие, например, от истинных ассоциативных нейронов вегетативного рефлекса, тела которых расположены в задних рогах спинного мозга, а относительно короткие отростки образуют синапсы с клетками промежуточных ядер среднего рога (первыми двигательными нейронами).

Очень часто к отдельной категории относят **нейросекреторные клетки**, выбрасывающие так называемые нейрогормоны, выделяемые, как и нейромедиаторы (нейромодуляторы), через нервные окончания, но не в межклеточное пространство синаптической щели, а во внутренние жидкости организма (кровь, гемолимфа, тканевая или спинномозговая). Такие клетки широко распространены как у беспозвоночных (*нейрогемальные органы*), так и позвоночных (нейросекреторные клетки гипоталамуса, хромаффинные клетки надпочечников) организмов. Образующиеся в теле нейросекреторных клеток белковые гранулы нейрогормона (синтезируются на рибосомах, а окончательное формирование происходит в комплексе Гольджи, где они связываются с белками-носителями) перемещаются по их аксонам, контактирующим с капиллярами (аксовазальные контакты). Выделение таких гранул, содержащих полипептиды либо низкомолекулярные производные аминокислот, например катехоламины или серотонин, происходит путем экзоцитоза под влиянием нервных импульсов, достигающих расширенных окончаний аксонов таких клеток.

В зависимости от влияния, оказываемого на связанные с ним клетки, нейроны можно разделить:

- на **возбуждающие** — стимулирующие возникновение нервных импульсов в связанных с ними посредством синаптического контакта исходно неактивных нейронах или усиливающих электрическую импульсацию этих клеток в случае наличия таковой изначально;
- **тормозные** — подавляющие электрическую активность в связанных с ними нейронах или создающие условия, препятствующие развитию нервного импульса в таких клетках.

Способность к генерации электрических сигналов является неотъемлемым свойством нервных клеток, поэтому паттерн (рисунок) нервных

импульсов, характерных для разных нейронов, также может служить критерием для их разделения на группы:

- **молчащие** нейроны — характеризуются отсутствием спайковой активности, связанной с формированием нервного импульса при отсутствии действия внешних сил на нервную клетку;

- **спонтанно активные** нейроны — способны к самопроизвольной генерации нервных импульсов даже в отсутствие синаптических или каких-либо иных входов к таким клеткам (нейроны пейсмекерного или осцилляторного типа).

Под влиянием внешних входов молчащие нейроны могут выходить из неактивного состояния, а паттерн нервных импульсов спонтанно активных клеток может претерпевать существенные изменения.

Пейсмекерные нейроны не единственный функциональный компонент, отвечающий за возникновение нервных импульсов в той или иной зоне мозга. Существуют и так называемые сетевые осцилляторы (*network oscillators*) — взаимодействующие посредством синаптических контактов нервные клетки, лишенные собственной пейсмекерной активности, но в совокупности способные к генерации нервных импульсов даже в отсутствие внешних входов (подробнее см. подразд. 4.1).

В результате формируется определенный разрядный рисунок (*discharge pattern*), лежащий в основе электрофизиологической характеристики нейронов (рис. 25):

- **тонические** нейроны (*regular spiking*) — постоянно активные клетки, поддерживающие постоянную частоту импульсации на протяжении длительного периода времени;

- **фазические** нейроны — способны к генерации постоянно повторяющихся серий нервных импульсов (нейроны взрывного типа, *bursting type neurons*);

- **высокочастотные** нейроны (*fast spiking*) — способны к генерации нервных импульсов с высокой частотой, достигающей десятков и сотен Гц.

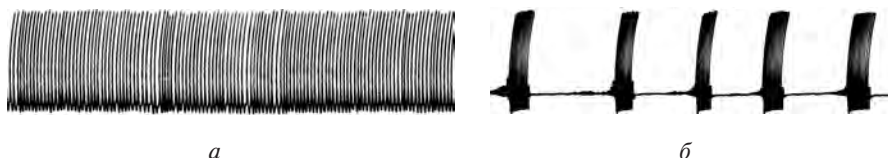


Рис. 25. Тонический (а) и фазический (б) типы спонтанной электрической активности идентифицированных клеток нервной системы моллюска *Lymnaea stagnalis*. Гигантские серотонин- (а) и дофаминергические (б) нейроны дорсальной стороны (D) левого (L) / правого (R) педальных (Pe) ганглиев — L.Pe.D.1 и R.Pe.D.1

Данный критерий следует применять с осторожностью, так как паттерн электрической активности может претерпевать качественные изменения (переход с тонического режима на фазический и наоборот) в зависимости от мощности синаптических входов, их интеграции и т. п.

Разрядный паттерн нейронов беспозвоночных гораздо более разнообразный, что послужило основой для идентификации нервных клеток А. Арванитакиса (1958 г.) в нервной системе у моллюска *Aplysia*, а затем и других видов. Другие электрические характеристики нервных клеток, такие как уровень мембранного потенциала (потенциал покоя), пороговый потенциал, мембранное сопротивление и ёмкость, вольт-амперная характеристика и т. п., тоже могут служить в качестве классификационных критериев при разделении групп нейронов. Однако в настоящее время они преимущественно используются лишь при описании нейронов разных функциональных и/или морфологических типов, а не как самостоятельные разделительные критерии.

Подводя итог изложенному, несложно видеть, что использование одних только морфологических или функциональных критериев для характеристики нервных клеток дает неполное представление об их месте и физиологической роли в составе нейронной сети нервного центра. Всеобъемлющая паспортизация каждой клетки мозга видится потенциальной задачей исследований нейроморфологической направленности. К сожалению, к текущему моменту можно говорить о ее решении лишь в отношении почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*. Ее нервная система является инвариантной (независимо от размеров животного в ней всегда содержится одно и то же число клеток) и насчитывает всего 302 нейрона при общем числе клеток тела у гермафродитной особи 959. Очевидно, что трудности, связанные с полным картированием 80–85 млрд нервных клеток и потенциальных 1000 млрд нервных связей (а возможно, и много большего их числа) человека, еще только предстоит преодолеть.

Идея об уникальности нейронов закрепилась в обиходе нейрофизиологов в 50–60-х гг. XX века и применима как к нервной системе беспозвоночных, так и позвоночных животных, хотя ее распространение на каждую клетку мозга не может быть гарантировано, особенно в отношении последней группы. Открытие *идентифицируемых нейронов*, т. е. клеток, которые имеют постоянную локализацию в нервной системе, приходится на вторую половину XIX века и связано с работами Ф. Лейдига и Г. Ретциуса по исследованию строения нервной системы кольчатых червей. В это же время были описаны инвариантные клетки у позвоночных — маутнеровские нейроны продолговатого мозга рыб. Гомологичные нейроны позвоночных обладают относительно схожим морфологическим рисунком, как это можно видеть в отношении клеток Пуркинье мозжечка (рис. 26).

Как правило, количество идентифицируемых индивидуальных нейронов составляет около 10 % от их общего числа, а примерно 50 % клеток относятся к специфическим скоплениям. В течение 60–70-х гг. XX века было начато про-

должающееся до сих пор составление карт идентифицируемых клеток нервной системы и их связей для целого ряда модельных нейробиологических организмов: моллюсков, членистоногих, кольчатых червей.

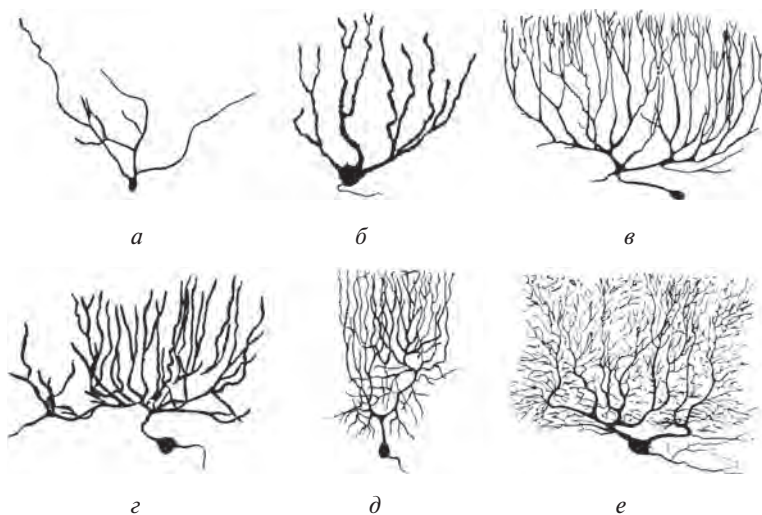


Рис. 26. Морфология клеток Пуркинье позвоночных (по Проссеру, 1978):
a — минога; *б* — акула; *в* — костистая рыба; *г* — черепаха; *д* — птица; *е* — человек.
 Относительные размеры клеток не соблюдены

В последние десятилетия в связи с развитием геномных технологий и возможностью получения полного транскриптома, т. е. информации обо всех экспрессирующихся в клетке генах, для отдельных нейронов мозга были получены доказательства их молекулярной уникальности. Однако далеко не всегда, по данным Л. Мороза (L. Moroz, 2018), нейроны, например, с одинаковой нейромедиаторной специфичностью, содержат сходные молекулярные маркеры.

Интеграция генетических различий между нервными клетками с их функциональными и структурными характеристиками в единую систему видится одной из приоритетных задач нейроносистематики.

1.2. КЛЕТКИ НЕЙРОГЛИИ

Глия (от. греч. *glia* — клей) представляет собой совокупность ненервных (часто говорят о вспомогательных) клеток нервной ткани. Глиальные клетки очень плотно окружают нейроны, заполняя пространство между ними и капиллярами в нервной ткани. Общее количество клеток глии в головном мозге человека составляет ~85 млрд (согласно более ранним данным — около 140 млрд), что примерно соответствует числу составляющих ее нейронов. Традиционно в руководствах по нейроанатомии приводятся сведения о том, что объем нейроглии в центральной нервной системе человека (головном и спинном мозге) составляет, по разным оценкам, от 40 до 50 % ее общего объема, а количество клеток глии превышает число нейронов примерно в 10 раз. Последнее утверждение справедливо лишь в отношении эволюционно древних участков мозга — базальных ганглиев конечного мозга и ствола головного мозга, где соотношение числа нервных и глиальных клеток составляет 1 : 11,35. В коре больших полушарий оно снижается до 1 : 3,72 (1 : 1,48 отдельно для серого вещества), а в мозжечке и вовсе равняется 1 : 0,23 — число нейронов превышает количество глиальных клеток (69,03 против 16,04 млрд клеток соответственно)¹.

Клетки глии были описаны немецким патологом Рудольфом Вирховым (Rudolf Virchow, 1821—1902) в 1846 г. (детализировано им же в работах 1856 и 1958 гг.), который и предложил использовать термин «нейроглия» к структурам, скрепляющим нейронную часть ткани головного и спинного мозга и придающими ей целостную форму. Стоит отметить, что клетки глии были известны и по работам других гистологов: Р. Ремака (оболочка нервных волокон (1838), т. е. шванновские клетки), Г. Мюллера (радиальная глия сетчатки (1851), т. е. мюллеровские клетки), К. Бергмана (радиальные волокна мозжечка (1858), названные впоследствии К. Гольджи клетками Бергмана),

¹ Подсчет «точного» количества клеток в составе мозга человека являлся весьма рискованным мероприятием на протяжении всей истории нейрофизиологии. См., например, статью: *Bartheld C. S., Bahney J., Herculano-Houzel, S. The search for true numbers of neurons and glial cells in the human brain: A review of 150 years of cell counting // J. Comp. Neurol. 2016. Vol. 524 (18). P. 3865—3895.*

О. Дейтерса (звездчатые клетки (1865), т. е. астроциты). Происхождение клеток глии из общего с нейронами источника (нейроэктодермы) было установлено В. Гисом (1889).

Размеры глиальных элементов примерно в три-четыре раза меньше размеров нервных клеток (рис. 27).

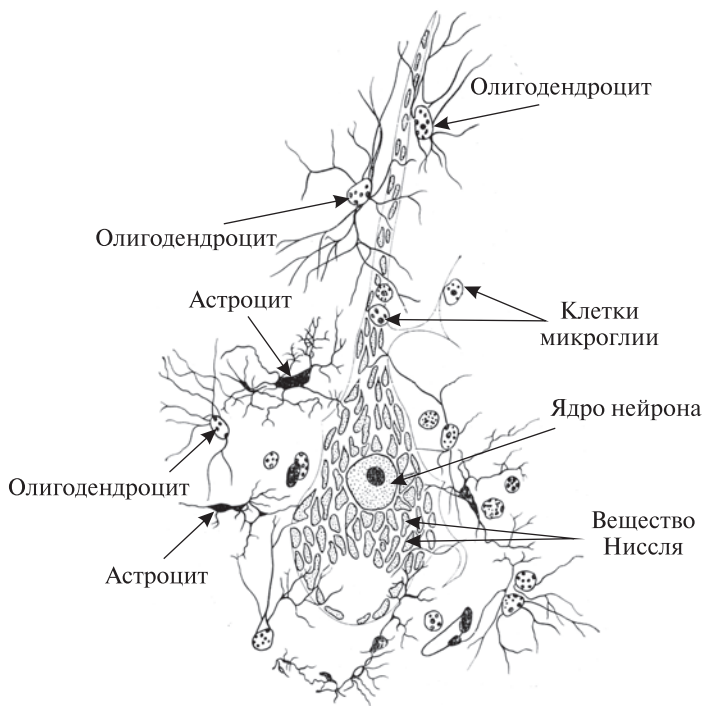


Рис. 27. Пирамидный нейрон в окружении клеток глии
(по Шаде и Форду, 1976)

Их число увеличивается с возрастом, поскольку в отличие от большинства нейронов клетки глии сохраняют способность к делению и во взрослом организме.

Нейроглия достигает максимального развития у млекопитающих. Это связано как с увеличением числа клеток глии, происходящим параллельно с увеличением размеров мозга (по некоторым данным, соотношение глия/нейроны в коре головного мозга составляет: ~0,4 (крысы), ~1,65 (человек), ~4–5 (слоны и киты)), так и возрастая сложностью ее клеточной организации (астроциты человека в 2–3 раза больше и содержат примерно в 10 раз больше отростков

с более разветвленной структурой по сравнению с астроцитами грызунов (крысы, мыши), что позволяет одной такой клетке образовывать контакты с ~2 млн синапсов (для грызунов это число составляет 20–120 тыс.)).

Глиальные клетки, за исключением условий *in vitro*, не способны генерировать распространяющиеся нервные импульсы (потенциалы действия), что автоматически поставило их в «подчиненное» положение по отношению к нейронам в большинстве работ нейрофизиологической направленности. Начиная со второй половины XIX века за ними прочно закрепились «вспомогательные» функции, обеспечивающие надлежащее функционирование нервных клеток, — опорная, трофическая, барьерная, разграничительная, секреторная, защитная, репаративная.

Однако с исследований С. Куффлера (S. Kuffler), начатых им в 60-х гг. XX века, нейроглия признается в качестве активного участника процессов возбуждения, торможения и распространения нервных импульсов по отросткам нервных клеток, межклеточных взаимодействий.

1.2.1. ТИПЫ ГЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

Основной морфологической чертой, отличающей клетки глии от нейронов, является отсутствие у них структуры типа аксона, т. е. в случае наличия у них отростков они относятся к структурам изополярного типа. Отростки глии очень тонкие, меньше 1 мкм в диаметре. Клетки глии окружены щелевидным (около 20 нм) внеклеточным пространством. Нейроны и глия взрослого организма обычно не образуют специализированных контактов (синапсов) друг с другом. В то же время между собой клетки глии связаны посредством щелевого соединения (подробное описание строения таких контактов дано в подразд. 1.3).

Плазматическая мембрана клеток глии содержит целый спектр ионных каналов (калиевой проводимости, потенциалчувствительные натриевые и калиевые, хлорные), транспортеров как для ионов натрия, калия, протонов и бикарбоната, так и для глутамата, ГАМК, глицина, т. е. нейромедиаторов, выбрасываемых нейронами при синаптической передаче. Кроме того, она несет на себе и многочисленные рецепторы к самым разным нейромедиаторам.

Глиальные клетки (рис. 28) у позвоночных подразделяются на две большие группы (подробное описание клеток дано ниже):

- **макроглию**, представленную астроглией, олигодендроглией, радиальной глией и эпендимой (в составе периферической нервной системы дополнительно отмечают шванновские и сателлитные клетки, а также энтеральную глию (кишечные глиальные клетки));

- **микроглию**, включающую глиальные макрофаги.

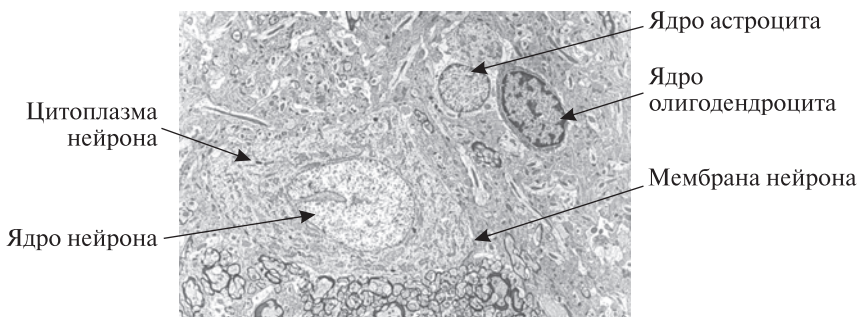


Рис. 28. Нейрон и примыкающие к нему клетки нейроглии (по Spacek, 2018)

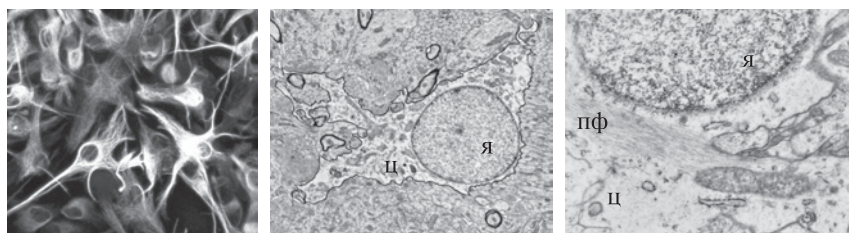
Наиболее распространенными являются олигодендрокиты (45–75 % в зависимости от области мозга), затем следуют астроциты (19–40 %) и клетки микроглии (10 % и меньше).

Глия относительно рано возникает в ходе эволюции — с момента организации первых нервных узлов (ганглиев) при переходе от диффузной нервной системы к узловой. У *Caenorhabditis elegans* искусственное удаление глии еще не приводит к гибели нейронов, хотя и изменяет функцию сенсорных клеток, тогда как у более высокоорганизованных организмов удаление глии из ЦНС вызывает гибель нейронов.

Астроцитарная глия (от греч. astron — звезда) содержит многочисленные отходящие в радиальном направлении от тела отростки. Количество цитоплазмы в них невелико, но она содержит все основные органеллы, рассеянные в том числе (например, митохондрии) и по извитым выростам тела клетки. Ядро крупное, неправильной овальной формы. В местах расположения нейронов (серое вещество) астроциты ветвятся сильнее по сравнению с состоящим из волокон белым веществом мозга (рис. 29).

Экспрессируют так называемый кислый фибриллярный белок глии (*glial fibrillary acidic protein*, GFAP), относящийся к белкам промежуточных филаментов и выступающий в качестве молекулярного маркера астроцитов (его визуализация возможна при помощи связывающихся с ним флуоресцентных антител).

Астроциты — очень гетерогенная популяция клеток, поэтому дать точное определение понятию «астроцит» не так просто: не все астроциты звездчатой формы, не все из них экспрессируют GFAP и не все формируют контакты с капиллярами мозга. Одно из своеобразных определений трактует астроциты как популяцию клеток, остающихся в мозге после удаления из него нейронов, олигодендроглии и макроглии.



а

б

в

Рис. 29. Астроциты:

а — морфология астроцитов (помечены флуоресцентным красителем);
б — протоплазматический астроцит (границы клетки выделены на фотографии при помощи туши); *в* — фиброзный астроцит (фрагмент, содержащий ядро (я) и пучок промежуточных филаментов (пф) в цитоплазме (ц) (*а* — по Kandel e. a., 2000; *б, в* — по Spacek, 2018))

В зависимости от формы клеток, выявляемой при их окрашивании, астроцитарная глия делится на два основных типа:

- **протоплазматические астроциты** — широко представлены в участках серого вещества мозга позвоночных, располагаясь в области сомы и дендритов нейронов, а также в области синаптических контактов. Диаметр их перикариона — 15–20 мкм. От тела отходят короткие и широкие отростки. Гранулярная сеть развита слабо, а цитоплазма содержит относительно небольшое количество фибриллярного материала — микротрубочек и промежуточных филаментов;

- **фиброзные астроциты** — преимущественно локализованы в пучках миелинизированных волокон белого вещества мозга. Размер (диаметр) перикариона составляет 10–20 мкм. Многочисленные длинные отростки дихотомически ветвятся и содержат большое количество пучков промежуточных волокон, как правило, в ущерб другим органеллам.

Переплетающиеся отростки астроцитов заполняют пространство между телами и отростками нейронов, образуя трехмерный опорный каркас (опорный аппарат) мозга (рис. 30).

Длинные отростки клеток астроцитарной глии контактируют как с нейронами, так и с капиллярами мозга. Это единственные клетки, располагающиеся между телами нервных клеток и сосудами микроцир-

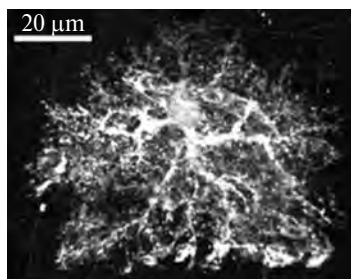


Рис. 30. Трехмерная реконструкция морфологии астроцита (по W.-S. Chung e. a., 2015)

куляторного русла. Они являются основой *гематоэнцефалического барьера* (подробнее о его характеристиках см. ниже). Кроме того, астроциты формируют клеточные мостики между капиллярами и эпендимной выстилкой полостей желудочков мозга. Короткие отростки волокнистых астроцитов контактируют с мягкой мозговой оболочкой, формируя *краевую глию*.

В чувствительных, симпатических и парасимпатических ганглиях периферической нервной системы описаны плоские по форме *спутниковые клетки глии* (мантийные глиоциты), скопления которых, полностью окружающие тела нервных клеток (как правило, каждую индивидуально или кластер из 2–3 нейронов), заключают их в своеобразный футляр (см. рис. 22). Мантийные глиоциты по своему происхождению (от клеток нервного гребня), особенностям строения, характеру взаимодействия с нейронами сходны с олигодендроцитами (шванновскими клетками), а по выполняемым функциям (обеспечение микроокружения нейрона) близки также к астроцитам.

Радиальная глия представлена биполярными клетками с овальным телом и двумя основными отростками, концевые участки которых контактируют со стенкой желудочков мозга и поверхностью мягкой мозговой оболочки (рис. 31).

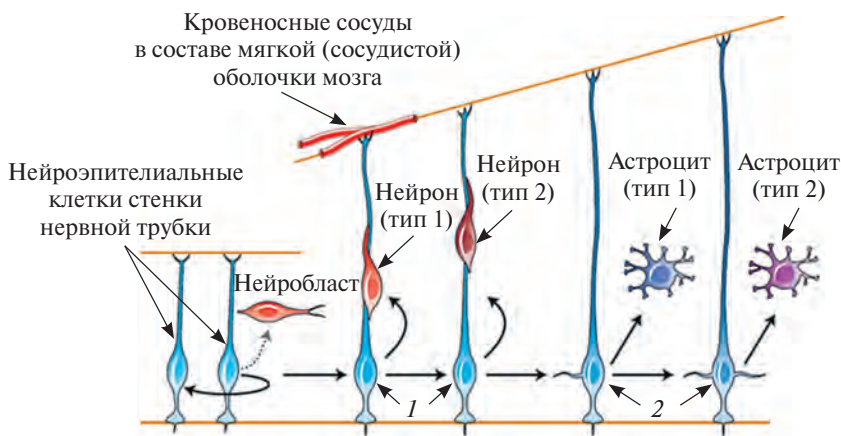


Рис. 31. Клетки радиальной глии как пути миграции нервных клеток:

1 — радиальная глия в эмбриональный период;

2 — радиальная глия во взрослом мозге (по Bayraktar e. a., 2014)

В большей мере они характерны для формирующегося мозга, т. е. играют важную роль в ходе онтогенетического развития центральной нервной системы у млекопитающих. Это первые клетки, которые дифференцируются из нейробластов, образуя пути миграции нервных клеток (вдоль своих отростков) через толщу спинного мозга, мозжечка и сетчатки глаза

к своему месту назначения. После созревания мозга клетки радикальной глии, как правило, исчезают или трансформируются в астроциты.

В ЦНС взрослых животных они представлены клетками Бергмана мозжечка и клетками Мюллера сетчатки. Для клеток Бергмана характерны относительно малые тела (~15 мкм) и наличие 3–6 отростков. Несколько, в среднем около 8, клеток Бергмана окружают единственный нейрон Пуркинье, формируя поддерживающую оболочку для его многочисленных дендритов.

Каждая клетка Бергмана обеспечивает покрытие до 8 тыс. синапсов между параллельными волокнами и дендритами клеток Пуркинье.

На долю клеток Мюллера приходится до 20 % общего объема сетчатки (~25 тыс. клеток Мюллера на 1 мм² площади поверхности сетчатки). Каждая клетка Мюллера формирует контакты с четко определенной группой нейронов, определяя их колончатую организацию.

Каждая клетка Мюллера человека поддерживает ~16 нейронов сетчатки.

Эпендимные клетки (от греч. *ependyma* – верхняя одежда), или **эпендимоциты**, образуют выстилку стенки центрального канала спинного мозга и желудочков головного мозга. Эти умеренно полярные клетки с телом вытянутой формы содержат на апикальном (свободном, обращенном в полость канала или желудочка) конце реснички (рис. 32).

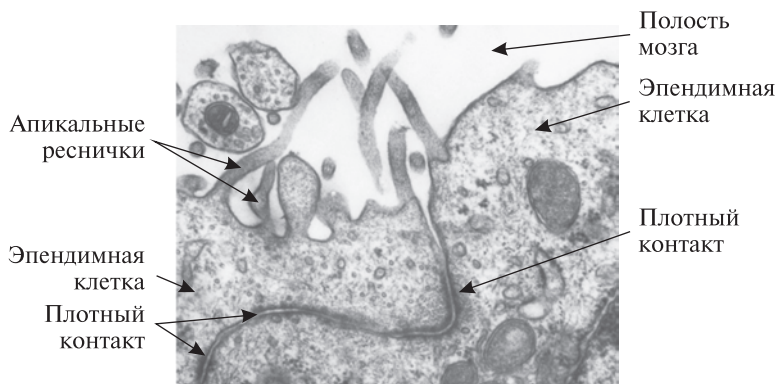


Рис. 32. Контактирующие эпендимные клетки
(по Spacek, 2018)

Биение ресничек способствует циркуляции спинномозговой жидкости (ликвора). От базального конца эпендимоцита отходит направляющийся в глубь мозга отросток, имеющий различную длину и степень ветвления. Некоторые из таких ветвей вступают в контакт с отростками других глиальных клеток.

Некоторые эпендимные клетки, расположенные в области стенки третьего желудочка мозга, — *танициты* (составляют около 0,6 % от общего числа клеток боковой стенки) простирают свои отростки глубоко к ядрам гипоталамуса. Считается, что они участвуют в передаче сигналов от ликвора к нейронам.

Олигодендроглия (от греч. *oligos* — немногочисленный и *dendron* — дерево) относится к малоотростчатой глии, клетки которой (олигодендроциты) по размерам уступают астроцитам округлой формы и содержат небольшие ядра, интенсивно окрашиваемые базофильными красителями (рис. 33). Число их протоплазматических отростков значительно меньше в сравнении с астроцитами, что, собственно, и обусловило их наименование.

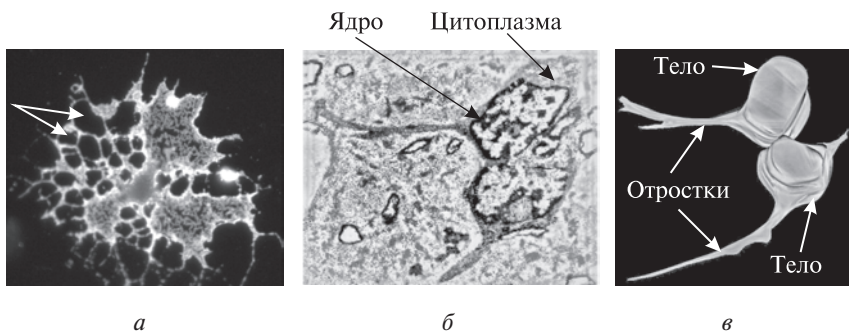


Рис. 33. Олигодендроциты:

а — морфология олигодендроцита

(помечены флуоресцентным красителем, стрелки указывают на места расположения отростков нейронов (нервных волокон));

б — расположенные рядом олигодендроциты;

в — трехмерная реконструкция клеток, представленных в части *б* рисунка (*а* — по Kandel e. a., 2000; *в* — по Spacek, 2018)

Олигодендроциты более многочисленны в белом веществе мозга, где они располагаются между находящимися там в большом количестве нервными волокнами (интерфасцикулярные клетки), хотя и в составе серого вещества они также представлены достаточно широко (глиоциты — сателлиты). Помимо центральной нервной системы они широко распространены и на периферии, где известны как *шванновские клетки* (*леммоциты*). Олигодендроглия образует как миелиновые (мякотные), так и безмиелиновые оболочки аксонов (см. подразд. 2.2). В ЦНС миелиновые оболочки аксонов образованы олигодендроцитами (рис. 34).

При этом одна глиальная клетка может участвовать в формировании миелиновой оболочки вокруг нескольких соседних аксонов, а следовательно, для образования полной многослойной обкладки нейрита в данном участке белого вещества необходимо несколько клеток глии.

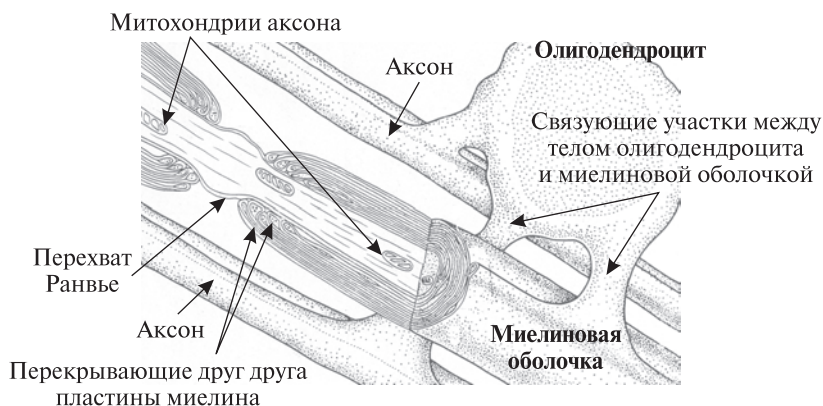


Рис. 34. Схема связи олигодендрокита с миелиновыми оболочками нескольких аксонов (по Шаде и Форду, 1976)

Клетки микроглии представлены глиальными макрофагами — мелкими клетками с малым количеством цитоплазмы, тонкими неветвящимися отростками и максимальной среди клеток глии базофилией (рис. 35).

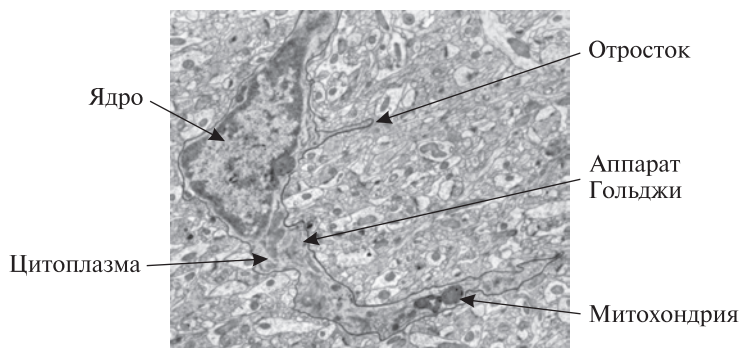


Рис. 35. Клетка микроглии головного мозга (по Spacek, 2018). Границы клетки выделены на фотографии при помощи туши

Ядра разнообразны по форме и содержат ядрышко. Равномерно распределены в пределах участков мозга. Способны к активному перемещению, скорость которого оценивается в 300 мкм/ч и фагоцитозу поврежденной ткани, а также продукции *ламнина* (наравне с астроцитами) — одного из белков внеклеточного матрикса, способствующего росту аксона.

Микроглия имеет мезенхимное происхождение (мононуклеарные клетки кровеносных островков желточного мешка), роднящее ее с ма-

крофагами периферической крови. Они колонизируют развивающиеся области мозга до формирования гематоэнцефалического барьера.

Клетки микроглии способны изменять свою форму в зависимости от своей функциональной активности, что позволяет выделить ряд их морфологических типов: ветвистые (в состоянии покоя в неповрежденных участках мозга), активированные или реактивированные, нефагоцитирующие, фагоцитирующие клетки микроглии и мозговые макрофаги, характеризующиеся амебоидной формой, изменения которой обусловлены последовательными этапами фагоцитоза, связанного с поглощением чужеродных агентов, в том числе фрагментов собственных поврежденных клеток (рис. 36).

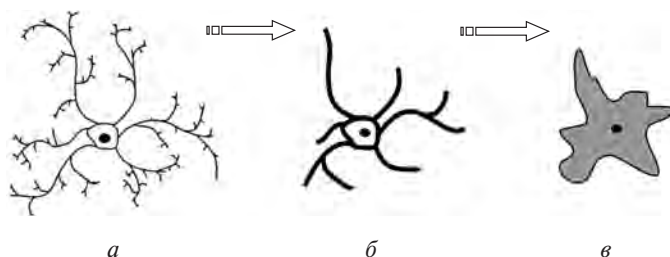


Рис. 36. Схема активации микроглии:

а — ветвистая (покоящаяся) клетка микроглии;
 б — активированная клетка микроглии; в — амебоидная
 (фагоцитирующая) клетка микроглии (по Pfaff & Volkow, 2016)

Каждая клетка микроглии «контролирует» определенную территорию. Отростки покоящейся микроглии постоянно перемещаются (1,5 мкм/мин), сканируя это пространство, увеличивая или уменьшая свою длину (на 2—3 мкм/мин) с целью обнаружения возможных признаков (сигналов) повреждения клеток (АТФ, тромбины, цитокины), наличие которых не определяется разрядным паттерном нейронов.

Отдельные популяции микроглиальных клеток (*периваскулярные* и *юкстава-скулярные*) преимущественно сосредоточены в непосредственной близости или контактируют с базальной пластиной кровеносных сосудов (капилляров) мозга. В отличие от основных клеток микроглии предшественниками периваскулярной, но не юкставаскулярной микроглии служат клетки костного мозга.

1.2.2. НЕРВНЫЕ ВОЛОКНА

Отросток нейрона, окруженный (покрытый) глиальной оболочкой и обеспечивающий проведение нервного импульса, получил название **нервного волокна**. Они составляют основу периферической нервной системы и формируют проводящие пути (белое вещество) в ЦНС. Размеры

нервного волокна могут колебаться от 0,5 до 1500 мкм и более, а длина, как уже неоднократно упоминалось, может превышать 1 м. Собственно отросток нейрона в составе нервного волокна именуется осевым цилиндром, а совокупность нервных волокон (пучки) при участии соединительной ткани образуют нервы (рис. 37).

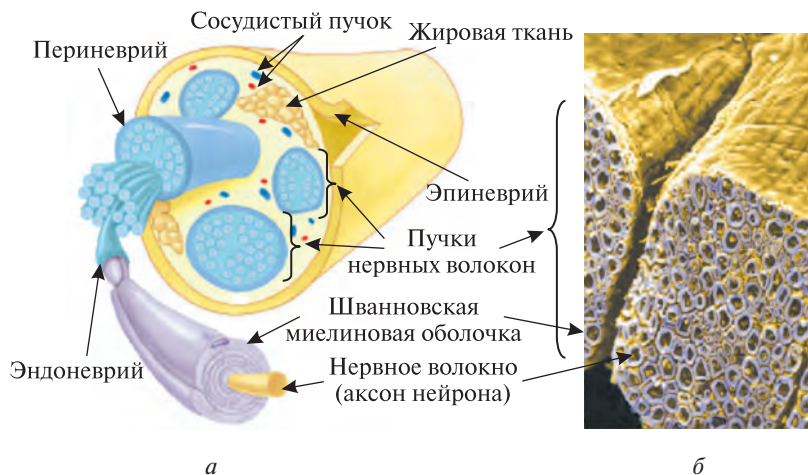


Рис. 37. Схема организации (а) и поперечный разрез (б) нерва (по Van De Graaff, 2002)

Таким образом, нерв оказывается окруженным общей соединительнотканной оболочкой — **эпиневрием**, удерживающей внутри себя пучки (группу) нервных волокон, каждый из которых покрыт **периневрием**. От него в глубь пучка отходят тонкие прослойки, окружающие отдельные нервные волокна и состоящие из базальной пластинки, единичных фибробластов и пучков коллагеновых волокон, — **эндоневрий**.

В составе зрительного нерва человека насчитывается свыше 1 млн нервных волокон при среднем их количестве в 1–10 тыс. для большинства смешанных нервов. При этом ряд нервов беспозвоночных содержат всего несколько нервных волокон.

Основным качественным структурным критерием, отличающим нервные волокна друг от друга, является наличие вокруг них миелиновой оболочки. Согласно этому критерию различают:

- **безмякотные (немиелинизированные)** нервные волокна — к ним относятся постганглионарные волокна автономной (вегетативной) нервной системы. Они также связаны со шванновскими клетками, будучи погруженными в их вдавления. В результате клеточная оболочка шванновской

клетки образует одиночный спиральный слой вокруг каждого участка аксона, а цепочка леммоцитов сопровождает такой отросток на всем его протяжении вплоть до нервного окончания.

Как следствие, нейрит оказывается «подвешенным» в складке «удвоенной» оболочки (плазмалеммы), т. е. ее дубликатуры, шванновской клетки — мезаксоне. Одна шванновская клетка образует такую оболочку вокруг одного или ряда (3—4, а местами и свыше 20) аксонов. В последнем случае нервное волокно (пучки Ремака) состоит из нескольких осевых цилиндров, «подвешенных» на одном мезаксоне (рис. 38).

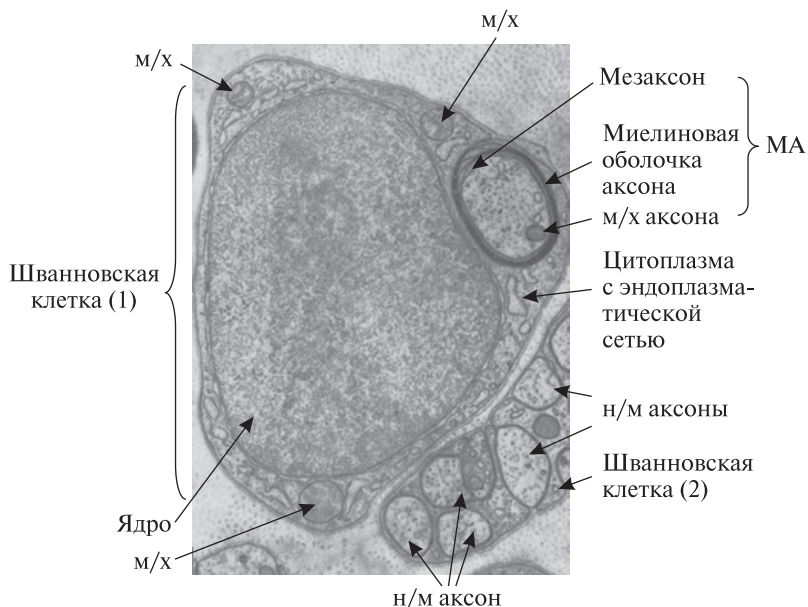


Рис. 38. Поперечный срез миелинизированного волокна (аксон соматического нейрона) и группы немиелинизированных волокон (аксоны нейронов автономной нервной системы) (по Шаде и Форду, 1976): м/х — митохондрия; н/м — немиелинизированный (аксон); МА — миелинизированный аксон

Ряд литературных источников различают отдельно *миелиновую оболочку*, представляющую собой спирально закрученные вокруг друг друга слои плазмалеммы отростка (выступа) шванновской клетки, и *шванновскую оболочку*, состоящую из собственно тела шванновской клетки, подковообразно огибающего аксон или тело нейрона, также заключающая последние в своеобразный глиальный футляр. С этих позиций безмякотные нервные волокна окружены только шванновской, а мякотные — и шванновской, и миелиновой оболочками. В англо-

язычной литературе образующие миелиновую оболочку шванновские клетки называются миелинизирующими (*myelinating Schwann cells*), а те которые образующие одиночный спиральный слой вокруг аксона — немиелинизирующими (*nonmyelinating Schwann cells*).

• **мякотные (миелинизированные)** нервные волокна — определяют-ся в составе как периферической, так и центральной нервной системы. Их осевой цилиндр всегда окружен собственной миелиновой оболочкой, переходящей в тело примыкающей к ней шванновской клетки, т. е. один мезаксон служит для фиксации одного мякотного волокна (подробное описание строения мякотного волокна дано в предыдущем разделе).

Традиционно считается, что нервные волокна беспозвоночных лишены миелиновой оболочки. Однако подобные ей чехлы, окружающие отростки нервных клеток и состоящие из множественных слоев плазмалеммы, отмечены у олигохет и ракообразных. При этом в отличие от круговых перехватов Ранвье перехваты таких миелинподобных оболочек формируют «пятна», оставляя непокрытым лишь один сектор кругового участка плазматической мембраны аксона.

Другим морфологическим критерием, относящимся скорее к количественным характеристикам и позволяющим различать нервные волокна, является их толщина. В сочетании с наличием у них миелиновой оболочки, определяющей скорость проведения нервного импульса (скорость распространения прямо пропорциональна диаметру волокна — с утолщением аксона она увеличивается и всегда выше в миелинизированных волокнах при сравнении отростков одинаковой толщины), различают следующие основные группы нервных волокон (физиологическая классификация нервных волокон млекопитающих по Эрлангеру — Гассеру, 1939):

• **A-волокна** — миелинизированные, в зависимости от диаметра (1–22 мкм) и функциональных характеристик подразделяются:

— на **A α** со средним диаметром 15 мкм и средней скоростью проведения 100 м/с (70–120 м/с), относимые к первичным афферентам мышечных веретен и двигательным волокнам скелетных мышц;

— **A β** со средним диаметром 8 мкм и средней скоростью проведения 50 м/с (30–70 м/с), относимые к кожным афферентам прикосновения и давления;

— **A γ** со средним диаметром 5 мкм и средней скоростью проведения 20 м/с (15–30 м/с), относимые к двигательным волокнам мышечных веретен;

— **A δ** со средним диаметром <3 мкм и средней скоростью проведения 15 м/с (12–30 м/с), относимые к кожным афферентам температуры и боли;

• **B-волокна** — миелинизированные средним диаметром 3 мкм (1–3,5 мкм) и средней скоростью проведения 7 м/с (3–18 м/с), представляющие преимущественно преганглионарные волокна автономной нервной системы;

- **C-волокна** — немиелинизированные со средним диаметром 1 мкм (0,5–2,0 мкм) и средней скоростью проведения 1 м/с (0,5–2,0 м/с), представляющие постганглионарные волокна автономной нервной системы и кожные афференты боли.

Существуют и другие физиологические классификации нервных волокон, например классификация Ллойда — Ханта, также основанные на их разделении по диаметру и скорости передачи нервного импульса.

Функциональный критерий также положен в основу деления нервов:

- на **чувствительные (афферентные)** — содержат только центростремительные волокна, несущие нервные импульсы от периферии (рецепторов) к центральной нервной системе;

- **двигательные** — содержат центробежные волокна, несущие нервные импульсы к рабочей периферии (мышцам и железам) от центральной нервной системы;

Необходимо подчеркнуть, что понятие «двигательный нерв» есть определенная условность, принятая научным сообществом. В действительности такие нервы содержат и чувствительные (центростремительные волокна). В случае двигательных нервов, управляющих работой поперечно-полосатой мускулатуры, речь идет о проприоцептивных чувствительных волокнах, несущих информацию о текущей степени растяжения мышцы, сухожилий, связок и т. п. Без такого канала обратной афферентации (обратной связи) нормальная работа двигательных систем была бы невозможна. Однако волокон других видов чувствительности, кроме проприоцептивной, в них нет, что, собственно, и дает повод отнести такие нервы к двигательным образованиям.

- **смешанные** — включают в свой состав как центростремительные, так и центробежные волокна.

Различные анатомические классификации, применимые в основном к нервам позвоночных, основаны на топографическом принципе.

В зависимости от места отхождения нервов различают:

- **черепные** — 12 пар, отходящих от базальной поверхности головного мозга (за исключением блокового нерва, IV пары);

- **спинномозговые** — 31 пара, отходящая от боковых поверхностей спинного мозга.

По характеру иннервируемых органов выделяют нервы:

- **соматические** — чувствительная и двигательная иннервация стенки тела, состоящей из поперечно-полосатой мускулатуры. Дополнительно по расположению к поверхности тела различают:

- **кожные**, содержащие в своем составе чувствительные и вегетативные волокна;

- **мышечные**, содержащие чувствительные, двигательные и вегетативные волокна;

• **вегетативные (автономные)** — иннервация гладкой мускулатуры внутренних органов, а также их сенсорная иннервация. Они разделяются:

— на *преганглионарные* нервы, состоящие из отростков первых двигательных (преганглионарных) нейронов, тела которых расположены в составе центральных симпатических (промежуточные ядра боковых рогов симпатического столба спинного мозга, $C_{VIII} - L_{II}$) или парасимпатических (ствол мозга, крестцовые парасимпатические, $S_{II} - S_{IV}$) ядер;

— *постганглионарные* нервы, сформированные отростками вторых двигательных (постганглионарных) нейронов, тела которых находятся в составе симпатических пара- и превертебральных, а также парасимпатических интрамуральных ганглиев.

В зависимости от особенностей строения (топография ядер, длина отростков и т. п.) каждое из таких волокон может быть дополнительно отнесено к симпатическим или парасимпатическим.

1.2.3. ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКИЙ БАРЬЕР

Все участки паренхимы мозга заполнены нейронами и их отростками, глией и элементами сосудистой системы (капиллярами) (рис. 39). Единственное свободное пространство в ткани мозга представлено щелевидными участками, шириной около 20 нм, фактически заключенным между мембранами глиальных клеток и между глиальными клетками и стенкой капилляра (периваскулярное пространство). На долю такого пространства приходится примерно 1/5 часть от общего объема мозга. Основным структурным элементом нервной ткани, расположенным между нейроном и сосудистым руслом является астроцит, формирующий характерные отростки, так называемые ножки, охватывающие до 85 % поверхности капилляров.

Среди клеток глии, окружающей центральные нейроны, 90 % составляют олигодендроциты, а оставшиеся 10 % — астроциты, в то время как перикапиллярная глия содержит 70 % олигодендроцитов и 30 % астроцитов.

Таким образом, имеется два возможных пути переноса веществ между сосудами и нервными клетками — по извилистым межклеточным пространствам и по цитоплазме астроцита, что требует дополнительного пересечения плазматической мембраны, а следовательно, и специализированных для такого переноса трансмембранных систем. В этом случае клетки глии служат связующим звеном между нейроном и капилляром, обеспечивая поступление питательных веществ и удаление продуктов метаболизма, как минимум дополняя обмен, идущий через межклеточное пространство.

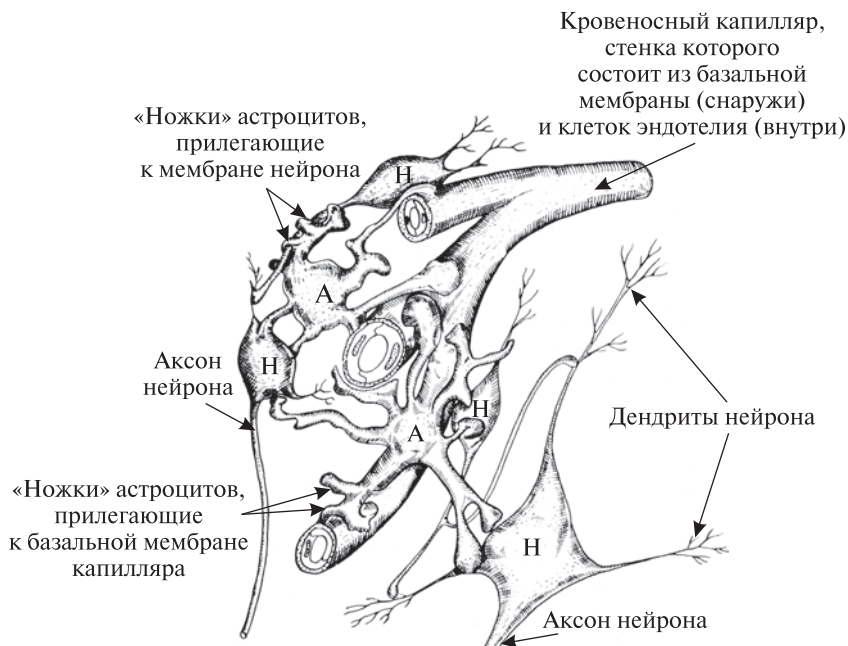


Рис. 39. Взаимоотношения между клетками нервной ткани и кровеносными капиллярами в мозге (по Шаде и Форду, 1976): Н — нейроны (тела); А — астроциты (тела)

Известно, что внеклеточный отек мозга развивается нечасто, а при экспериментальном отеке жидкость локализуется в глиальных клетках, что свидетельствует о роли астроцитов в ее переносе. Клетки глии, как это уже отмечалось, связаны друг с другом посредством щелевых соединений, позволяющих переносить вещества с молекулярной массой даже порядка 1000 Да по цепочке связанных таким образом клеток. Кроме того, «использование» межклеточного пространства в качестве транспортных путей существенно ограничивается формированием плотных контактов между клетками, препятствующих свободному перемещению даже мелких молекул, в том числе и воды.

С другой стороны, само поступление растворенных в крови веществ в периваскулярное пространство определяется состоянием стенки капилляра. Края эндотелиальных клеток капилляров мозга перекрывают друг друга и соединены посредством плотных контактов (рис. 40). В результате между ними не существует промежутков, а растворенные в крови компоненты «вынуждены» проникать в периваскулярные пространства транзитом через эндотелиальные клетки и подлежащую их базальную

мембрану. Как следствие, формируется *гематоэнцефалический барьер*, препятствующий свободному проникновению в ткань мозга большинства растворенных в крови веществ.

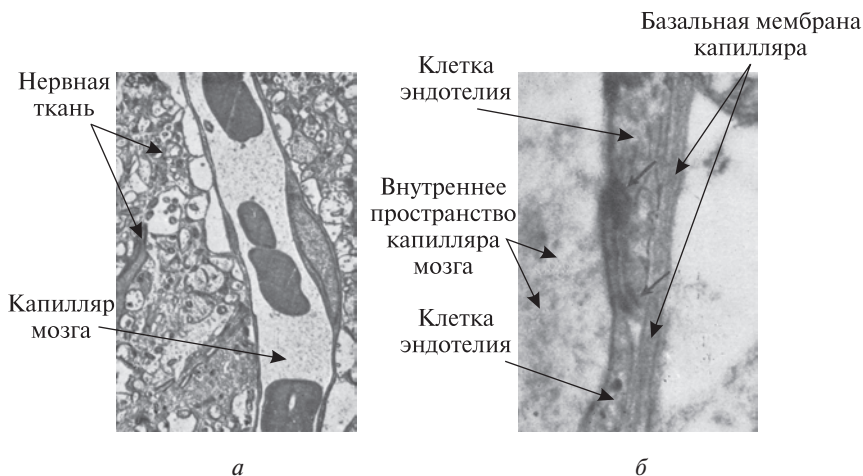


Рис. 40. Капилляр в мозге крысы (а) и строение гематоэнцефалического барьера (б) (по Шаде и Форду, 1976). Места формирования плотных контактов в области перекрытия краев эндотелиальных клеток указаны стрелками без подписи (б)

Фактически гематоэнцефалический барьер включает в себя эндотелиальные клетки капилляров, встроенные в базальную мембрану капилляров перициты и астроциты, объединяемые под термином «нейрососудистая единица» (*neurovascular unit*) (рис. 41).

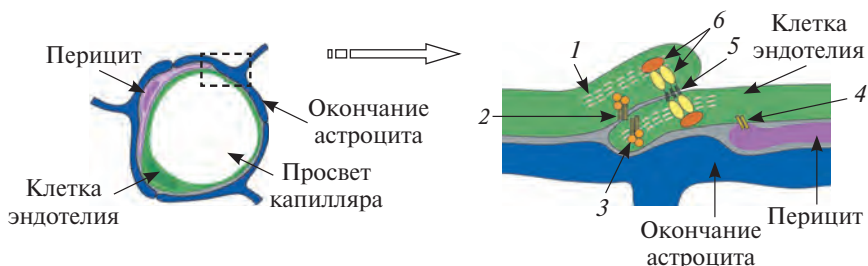


Рис. 41. Схема строения нейрососудистой единицы и участка с плотными контактами (по Daneman & Prat, 2015): 1 – цитоскелет; 2 – кадгерины Е-типа; 3 – катенины; 4 – кадгерины N-типа; 5 – белки плотных контактов (окклюдины, клаудины); 6 – адапторные белки (ZO, Ясорс)

Еще П. Эрлих (P. Ehrlich, 1854–1915) в 1885 г. показал, что введение в вену анилиновых красителей приводит к окраске всех тканей тела, но не затрагивает ткань мозга, что явилось первым экспериментальным указанием на существование гематоэнцефалического барьера (термин предложен М. Левандовским (M. Lewandowsky, 1876–1916) в 1900 г.).

Барьер оказывается относительно легко проницаем для мелких полярных (вода) и гидрофобных (O_2 , CO_2) молекул, в то время как перемещение крупных (>200 Да) или гидрофильных молекул, а также крупных белковых комплексов, бактерий и т. п. резко ограничено.

Перенос необходимых продуктов нормального метаболизма нейронов (глюкоза, аминокислоты) осуществляется при помощи специализированных транспортных белков.

Не следует, однако, преувеличивать возможности этого барьера, особенно в отношении ряда патогенов. В частности, *Toxoplasma gondii*, вызывающая токсоплазмоз, *Treponema pallidum*, возбудитель сифилиса, спирохеты рода *Borrelia*, некоторые виды стрептококков, ответственные за развитие болезни Лайма и менингита, способны пересекать гематоэнцефалический барьер. Это становится возможным за счет действия выделяемых ими цитотоксинов, выступающих в качестве разобщителей плотных контактов.

Некоторые участки сосудистого русла головного мозга не имеют такого барьера — капилляры крыши третьего и четвертого желудочков, а также шишковидной железы (эпифиза), что позволяет выделяемому ей мелатонину прямо попадать в сосудистое русло.

По всей видимости, наличие контакта астроцитов со стенкой капилляра является необходимым условием для формирования гематоэнцефалического барьера — формирование полноценных плотных контактов между эндотелиальными клетками происходит лишь в присутствии астроцитов, как свидетельствуют результаты опытов по их совместному и раздельному культивированию. Не стоит рассматривать астроциты только в качестве пассивного элемента гематоэнцефалического барьера, обеспечивающих лишь односторонний поток веществ из кровеносного русла к нейронам. Известно, что изменение электрической активности нейронов приводит к модификации ионного состава в окружающем их внеклеточном пространстве. Такие локальные сдвиги гомеостаза могут служить триггерами реакций, приводящих к высвобождению клетками глии, в том числе и в области их отростков, контактирующих с капилляром, целой группы биологически активных компонентов (например, монооксида азота), способных влиять на эндотелиальные клетки сосудистого русла. Таким образом, нейрональная активность приводит к местному расширению кровеносных сосудов, что увеличивает кровоснабжение данного участка мозга.

Сходным с гематоэнцефалическим барьером образом организован и гематоцереброспинальный (гематоликворный) барьер, ограничиваю-

щий неконтролируемое перемещение растворенных компонентов между полостями желудочков мозга, заполненных спинномозговой жидкостью и кровеносным руслом. Во всех четырех желудочках головного мозга млекопитающих и человека имеется скопление (ядро) капилляров, окруженных эпителиальными клетками (слой которых продолжается в слой эпендимных клеток) и утратившими соединительную ткань — *хороидные сплетения*, ответственные за выработку цереброспинальной (спинномозговой) жидкости. Эти модифицированные, не содержащие реснички клетки эпендимы (*хороидные эпендимоциты*) на своих апикальных, обращенных в сторону желудочков участках формируют плотные межклеточные контакты, составляющие основу гематоцереброспинального барьера.

Приведенные факты свидетельствуют о том, что клетки глии являются не просто структурными компонентами, обслуживающими истинные клетки мозга (нейроны), а активными участниками нервных процессов, обеспечивающими прямое влияние на нервные клетки и выполняемые ими функции.

1.3. МЕЖКЛЕТОЧНЫЕ КОНТАКТЫ

Реакции нейронов во многом предопределяются сигналами, поступающими из межклеточного пространства, т. е. от других клеток нервной ткани или организма, которые и служат источником такой сигнализации. Под влиянием внешних сигналов происходят как изменения электрических свойств мембраны нейронов, разрешающих (облегчающих, затрудняющих или даже делающих невозможным) возникновение нервного импульса, так и различные биохимические превращения внутри клеток, связанные с изменением уровня экспрессии генов, перестройками цитоскелета — клетка реагирует на раздражение. Кроме того, распространяющиеся по межклеточному пространству сигналы регулируют процессы, определяющие выживание нейронов, их способность к дифференцировке, делению (на ранних этапах онтогенеза), функциональную активность или гибель последних.

Несложно видеть, что в подавляющем большинстве случаев, особенно применительно к межклеточной коммуникации в пределах нервной ткани, речь идет о выделении какого-либо химического вещества в пространство, окружающее генерирующую сигнал клетку (тело или отростки) — принцип *гуморальной регуляции*. В последующем именно этот химический компонент будет детектирован структурами (рецепторами), поверхностными (мембранными) или глубинными (цитоплазматическими), соседней клетки, способной к восприятию такого сигнала.

Наличие рецепторов является необходимым условием для осуществления коммуникации, основанной на выделении сигнальных молекул во внеклеточное пространство. Вместе с тем они отнюдь не обязательны в случае, когда цитоплазма соседних клеток соединена при помощи специальных контактов (например, щелевых соединений (см. ниже)) или при синцитиальной организации клеток. Однако в отличие от первого из приведенных вариантов такое взаимодействие возможно только между клетками одинакового типа и в пределах одной ткани.

В зависимости от расстояния, на которое может переноситься выделяемая во внешнее по отношению к клетке пространство сигнальная молекула, выделяют:

- **эндокринную** передачу сигнала: при этом химическое вещество (гормон) попадает в кровеносное русло и вместе с током крови переносится

на значительные расстояния, оказывая влияние на клетки-мишени, расположенные в самых разных местах организма;

- **паракринную** передачу сигнала: химическое вещество («тканевой» регулятор, или *парагормон*) выделяется во внеклеточную среду, где оно способно диффундировать на незначительное расстояние, вовлекая в ответную реакцию *совокупность* расположенных рядом клеток;

- **нейронную** передачу сигнала: действие химического вещества (*нейромедиатора* или *нейромодулятора*) ограничено узкой областью специализированного контакта двух взаимодействующих клеток (синапсом). Таким образом, в идеализированном случае в ответную реакцию вовлекается лишь одна клетка из множества возможных. В рассмотренном варианте в качестве генерирующей сигнал структуры всегда выступает нервная клетка. Объектом ее влияния является другая нервная клетка, клетка мышечной ткани или железистого эпителия.

Следует помнить о том, что даже длинные отростки нейронов (аксоны) способны к ветвлению, что позволяет одной исходной клетке устанавливать взаимосвязи со множеством клеток-мишеней, нередко оказывая различное влияние на каждую из них, несмотря на одинаковое нейромедиаторное обеспечение всех образованных ею синаптических соединений.

Часто крайне сложно провести четкую границу между разными типами гуморальной сигнализации. Так, диффузия нейромедиатора может не ограничиваться областью синапса и он оказывает действие как на рядом расположенные, так и на удаленные клетки. Более того, как тканевые регуляторы, так и гормоны способны к модуляции синаптической передачи за счет изменения параметров и высвобождения нейромедиатора и его связывания с рецепторами клетки-мишени.

Отдельно отметим и **аутокринную** сигнализацию, когда продуцирующая сигнальную молекулу клетка обладает рецепторами к этой самой молекуле, становясь тем самым объектом такой регуляции. Подобного рода взаимоотношения встречаются, например, среди клеток эндотелия (эндотелины), иммунной (интерлейкины) и нервной (пресинаптические ауторецепторы, активируемые при связывании с неинaktivированными в синаптической щели молекулами «собственного» нейромедиатора) систем.

Коммуникация, основанная на выделении химических веществ в жидкие среды организма (кровь, лимфа, тканевая жидкость), часто предполагает перемещение сигнальной молекулы (с током вышеозначенных жидкостей или за счет диффузии в них) между занимающими стационарное положение в организме клетками (тканями, органами). С другой стороны, возможна и обратная ситуация, когда клетке приходится перемещаться между фиксированными структурами (другими клетками, элементами внеклеточного матрикса), как это происходит, например, на различных эта-

пах нейрогенеза и последующего синаптогенеза, когда занимаемое в ходе миграции положение нейробласта, характер контакта с окружающими его соседними клетками во многом определяют его дальнейшую судьбу. В этих случаях сигнальными молекулами выступают фиксированные компоненты, как правило, речь идет о различных протеидах, внеклеточного матрикса или клеточных мембран. Их связывание с мембранными рецепторами клетки-мишени и определяют коммуникацию, основанную на прямом контакте между клетками.

В иммунологии выделяют *иммунный синапс*, определяя его как соединение между несущей антиген клеткой или любой клеткой-мишенью и лимфоцитом. В его основе лежат белки надмолекулярного кластера активации (supramolecular activation cluster, SMAC), регулирующие активацию лимфоцита и управляющие секрецией им цитокинов.

1.3.1. ОСНОВНЫЕ ТИПЫ МЕЖКЛЕТОЧНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Морфологические структуры, возникающие в местах соприкосновения клеток в тканях, носят название **межклеточных контактов** (рис. 42). Они могут быть классифицированы как на основании выполняемой функции, так и структурных различий между ними. Однако первый подход видится оправданным, поскольку в структурном плане межклеточные соединения принципиально однотипны, основаны на образовании белок-белковых связей.

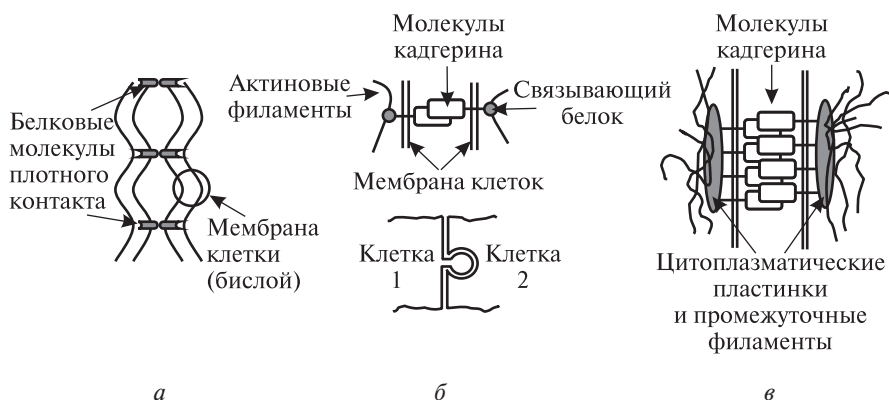


Рис. 42. Упрощенные схемы организации ряда межклеточных контактов: а — плотный контакт; б — слипающийся контакт и взаимное расположение мембран соседствующих клеток в межклеточном «замке»; в — десмосома

Функция герметизации отсеков межклеточного пространства между соседними клетками. В результате мелкие водорастворимые молекулы не способны свободно перемещаться во внеклеточном матриксе. Регулируя процессы диффузии, они играют ключевую роль в поддержании полярности клеток, особенно эпителиальных, обеспечивая различия в составе межклеточного пространства по разные стороны от слоя связанных таким образом клеток. Среди клеток нервной ткани эти контакты встречаются в том числе в составе миелиновой оболочки, образованной отростками шванновских клеток и олигодендроцитов, обеспечивая прилегание «витков» миелина друг к другу.

В организме позвоночных этот тип соединений представлен **плотными контактами** (*tight junction*). Электронно-микроскопические исследования показали, что такие соединения формируют своеобразную ячеистую структуру, выступающие «ребра» которой обеспечивают почти полное слияние наружных слоев соседствующих мембран (рис. 43). Они сформированы посредством связанных друг с другом и обращенных в сторону межклеточного пространства белков плазматической мембраны.

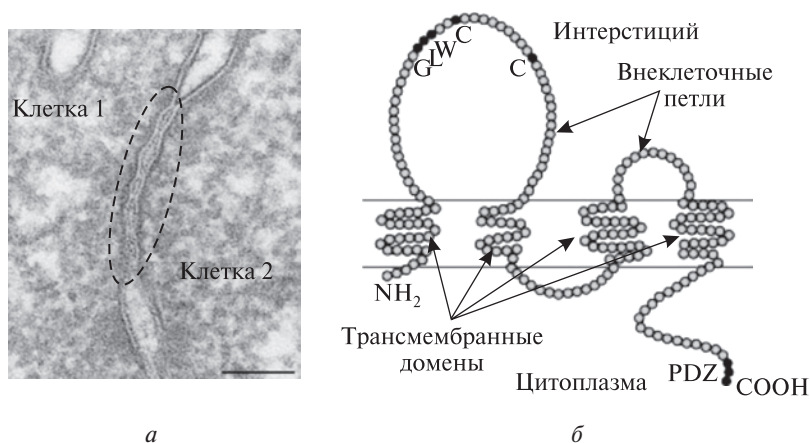


Рис. 43. Плотный контакт в эпителиальных клетках мыши (а) и мембранная топология клаудина (б) (по Furuse, 2010).

Область плотного контакта выделена пунктиром, калибровочная линия — 100 нм (а), консервативные последовательности аминокислот — темные круги (б)

Изначально сформировались две гипотезы относительно природы открытых в 1963 г. плотных контактов. Первая из них, «белковая модель», предполагает связывание противопоставляемых участков мембран за счет белков, относимых к молекулам клеточной адгезии. Вторая, «липидная модель», допускает образование инвертированных липидных мицелл, обеспечивающих непрерывность

наружных слоев плазмалеммы в месте контакта. Однако наблюдения, согласно которым помеченные флуоресцентной меткой липиды в мембране одной клетки контакта никогда не обнаруживаются в составе мембраны другой клетки контакта, а также тот факт, что плотные контакты устойчивы к действию детергентов, не подтвердили эту модель.

Белковый компонент плотных контактов можно разделить на три группы, включающие интегральные белки мембраны, белки цитоплазматической бляшки и белки цитоскелета.

Ключевым компонентом интегральных белков, составляющим основу плотного контакта, является *клаудин*, относящийся к одноименному семейству белков, включающему свыше 20 представителей (млекопитающие) с молекулярной массой от 21 до 28 кДа, четырьмя трансмембранными доменами, двумя внеклеточными петлями и цитоплазматическими концевыми N- и C-участками. Похожая топология характерна и для двух других белков плотного контакта — *окклюдина* и *трицеллулина*, однако их аминокислотная последовательность не имеет гомологии с таковой для клаудина. Их молекулы расположены в участках, соседних с контактами, сформированными клаудином, а трицеллулин, кроме того, массивно представлен в областях одновременного соединения трех клеток. В межклеточных участках плотного контакта могут быть представлены белки суперсемейства иммуноглобулинов (JAM-A, JAM4, CAR) и эндотелиальные селективные к клеткам молекулы адгезии (*endothelial cell-selective adhesion molecule*, ESAM).

Со стороны цитоплазмы структурными элементами плотных контактов являются в основном белки суперсемейства мембран-ассоциированных гуанилат киназ (*membrane-associated guanylate kinase*, MAGUK), поддерживающие белки ZO1, ZO2 и ZO3 (от *zonula occludens*, зона (пояс) замыкания), соединенные с C-концевым участком цитоплазматического домена интегральных белков. В свою очередь, они взаимодействуют с молекулами *F-актина*, относимого к структурным элементам цитоскелета.

Функция скрепления клеток друг с другом. В результате ткани приобретают механическую прочность, а различные клеточные типы не смешиваются в пределах одного органа (ткани). Такие контакты широко представлены как в пределах разных тканей, так и у различных видов животных.

Наиболее просто устроенными типами подобных соединений являются **простые (рыхлые) и промежуточные контакты**, в англоязычной литературе именуемые адгезионными (слипающимися) контактами (*adherens junctions*). В этом случае между плазматическими мембранами соседних клеток имеется щель шириной 10–20 нм, заполненная палочковидными молекулами белка, образующими как бы «мостки» между клетками, кольцеобразно их окружающими (*zonula adherens*, зона (пояс) слипания). Посредством связывающего белка они соединяются с кольцевыми *F-актиновыми* филаментами внутри клетки, как это характерно для эпителиальных тканей.

В нервной ткани слипающиеся контакты по форме часто напоминают миниатюрные пятна (рис. 44). Благодаря сокращению актиновых филаментов обеспечиваются координированные движения пластов клеток, что имеет большое значение в ходе эмбрионального развития, например при формировании нервной трубки (см. подразд. 1.4).

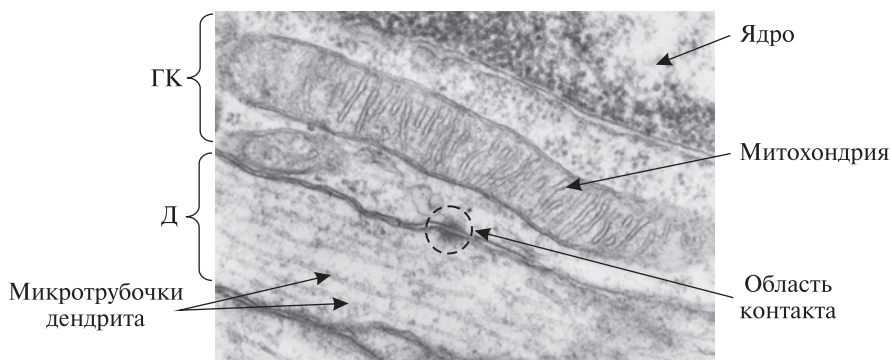


Рис. 44. Слипающийся контакт между гранулярной клеткой (ГК) и дендритом (Д) (по Spacek, 2018).

Своеобразной разновидностью таких контактов являются межклеточные «замки», когда мембраны соседних клеток изгибаются, образуя на поверхности клеток взаимодополняющие складки (выпячивания и соответствующие им впачивания)

Одним из белков, образующих структурную основу адгезионного контакта, является **кадгерин**. Семейство классических кадгеринов включает около 20 белков, характеризующихся сходной доменной организацией. Их внеклеточный домен разделен на пять повторяющихся субдоменов, каждый из которых содержит Ca^{2+} -связывающие последовательности. Взаимодействие с ионами кальция приводит к изменению конформации, что и предопределяет возможность образования соединения с молекулой кадгерина соседней клетки (рис. 45).

Различные хелаторы ионов Са (ЭДТА, ЭГТА) широко используются в качестве средств, обеспечивающих диссоциацию клеток в тканях или клеточных культурах.

В отличие от кальций-связывающихся последовательностей внеклеточных доменов другие их участки не обладают высокой степенью консерватизма, что и предопределяет разнообразие кадгеринов (Е-кадгерин или *cdh1*, N-кадгерин или *cdh2* и т. д.) и их адгезивную специфичность (Е-кадгерин связывается с Е-, но не N-кадгерином), лежащую в основе сортировки различных клеточных типов.

Классические кадгерины обнаружены в составе слипающихся контактов у различных видов, однако их структура может существенно отличаться от описанной выше. В частности, DN-кадгерин *Drosophila melanogaster* содержит 17 внеклеточных субдоменов, что делает его молекулу значительно более крупной в сравнении с кадгеринами млекопитающих.

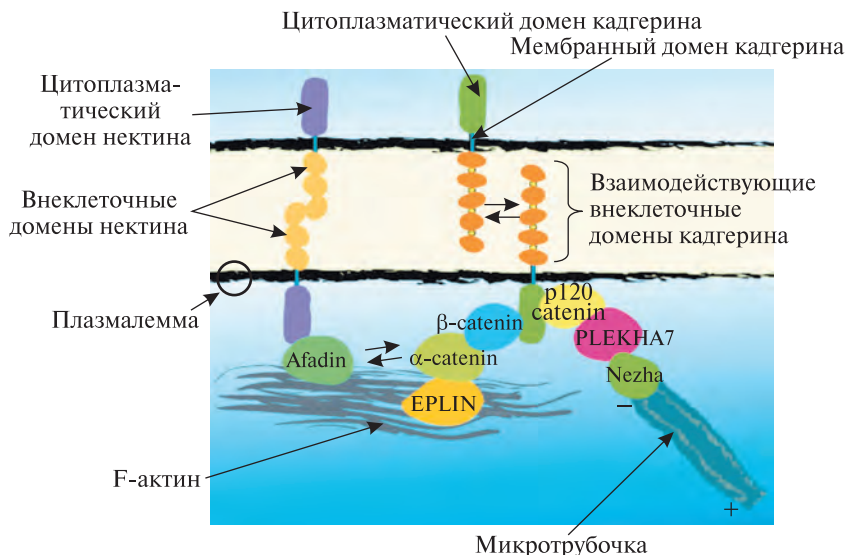


Рис. 45. Белки слипающихся контактов (по Meng & Takeichi, 2009)

Начиная с 90-х гг. XX века, т. е. по прошествии почти 30 лет после описания первых кадгеринов, в участках адгезионных контактов были открыты белки, чьи внеклеточные домены оказались сходными с таковыми для классических кадгеринов, но отличались от них по аминокислотным последовательностям цитоплазматических участков — неклассические кадгеринины (кадгеринины десмосом, протокадгеринины и т. п.).

Цитоплазматические домены классических кадгеринов высококонсервативны, в том числе и в эволюционном плане, сохраняя схожую структуру у представителей разных видов. Они предназначены для связывания с различными типами белков цитоплазмы, известных как *катенины*. Формирующиеся комплексы (кадгерин — β-катенин — α-катенин) взаимодействуют с молекулами F-актина, как правило, посредством актинсвязывающих белков. Удаление нейронного α-катенина из области слипающихся контактов синапса дестабилизирует синаптическое соединение, однако некоторые типы микротрубочек способны взаимодействовать с β-катенином и другими кадгеринсвязывающимися белками.

Другими словами, актиновые компоненты цитоскелета определяют стабильность слипающихся контактов, а регуляторные воздействия, направленные на филаменты актина, модифицируют и межклеточные контакты указанного типа. Так, животные, нокаутные по гену актиновой протеинкиназы C (aPKC) утрачивают слипающиеся контакты в нейроэпителиальных клетках.

Другими белками слипающихся контактов являются **нектины** (насчитывается четыре типа), относимые к семейству иммуноглобулинподобных трансмембранных белков. Их цитоплазматические домены связываются посредством белка *афадина* с молекулами *F*-актина. Кроме того, взаимодействие афадина и α -катенина указывает на возможность формирования физического контакта между двумя комплексами белков слипающихся контактов (кадгерин — катенин и нектин — афадин). Взаимодействие молекул нектин друг с другом, в отличие от такового для кадгеринов, не носит Ca^{2+} -зависимого характера. Этот тип соединения может быть гетеротипичным, когда взаимодействующие нектины соседних клеток относятся к разным типам, и оказывается более прочным в сравнении с гомотипичным контактом кадгеринов.

Нектиновые соединения обычно формируются первыми в составе слипающихся контактов при первоначальном соединении клеток (их отростков) друг с другом. В частности, в гиппокампе аксоны его нейронов, экспрессирующие нектин-1, формируют связи с дендритами, экспрессирующими нектин-3, после чего такое соединение «дополнительно» укрепляется кадгеринами.

Десмосомы (термин введен И. Шаффером, 1920) принципиально не отличаются от описанных выше структур. Они широко представлены среди тканей, испытывающих сильное механическое напряжение, и морфологически разделяются на три участка: внеклеточное ядро, наружную и внутреннюю плотность бляшки (рис. 46).

Основу этого типа контакта составляют трансмембранные гликопротеины, относимые к суперсемейству кадгеринов, — *десмоглеины* (четыре изоформы у человека, Dsg 1–4) и *десмоколлины* (три изоформы у человека, Dsc 1–3). Они оба содержат четыре внеклеточных субдомена, сходных с таковыми для кадгеринов и содержащие кальций-связывающие участки, а еще один внеклеточный субдомен (всего их, таким образом, насчитывается пять) используется для закрепления в мембране (якорный внеклеточный домен). Единственный трансмембранный домен переходит во внутриклеточный якорный домен, также содержащий кадгерин-подобные последовательности, связывающиеся с промежуточными белками (плакоглобин и плакофилин). В свою очередь, они контактируют с наиболее распространенным белком десмосомы — *десмоплакином*, прикрепленным к промежуточным филаментам (нейрофиламентам, если речь идет о нервных клетках) и связующим их плазматической мембраной.

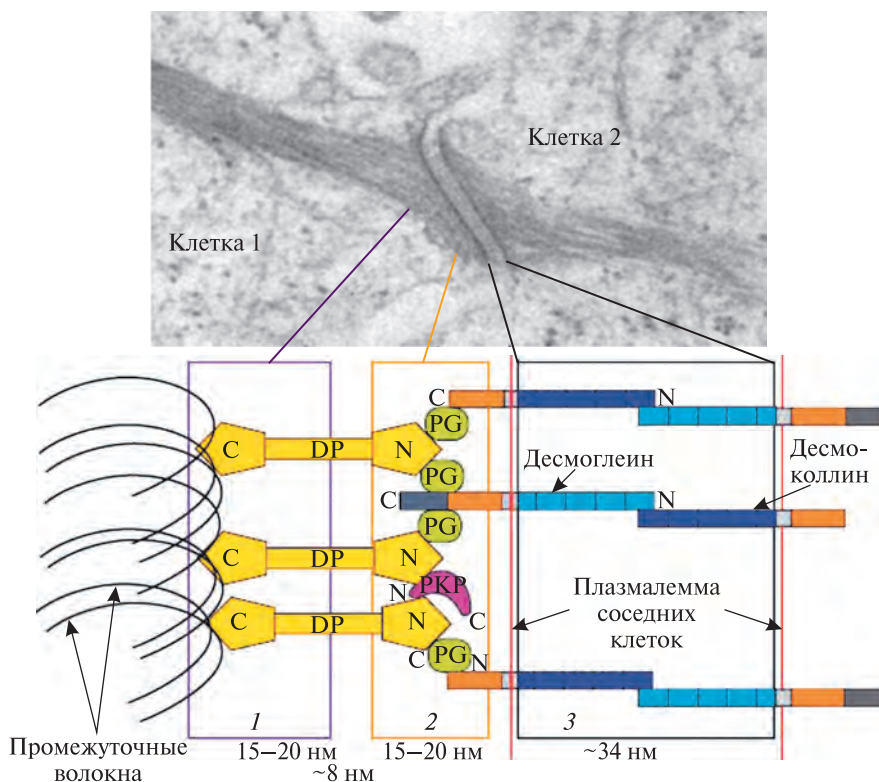


Рис. 46. Структурная организация десмосомы: электронно-микроскопическая фотография и схема расположения основных структурных белков (по Delva e. a., 2009):

1 – внутренняя плотность бляшки;
 2 – наружная плотность бляшки; 3 – внеклеточное ядро;
 DP – десмоплакин; PG – плакоглобин; PKP – плакофилин;
 N (C) – NH₂- и COOH-концевые участки белка

Десмоплакин относится к плакиновому семейству линкеров, способствующих интеграции актина, микротрубочек и микрофиламентов в единое целое. Плакоглобин и плакофилин относятся к семейству белков armadillo (первоначально открыты как регуляторы полярности в эмбриогенезе у *Drosophilla*), гомологичных катенинам (плакоглобин известен как γ -катенин).

Десмоглеины преимущественно формируют гомотипичные, а десмоколлины – гетеротипичные соединения с выраженной Ca²⁺-зависимостью. Известны и полудесмосомы, обеспечивающие прикрепление пласта клеток к базальной мембране (характерны для эпителиальных клеточных пластов).

Функция коммуникации между клетками как в пределах одной ткани, так и между разными типами тканей. Благодаря этим соединениям осуществляется транспорт веществ и передача сигналов. Они представлены химическими и электрическими синапсами, поскольку используют одноименные механизмы передачи. Подробные описания этих структур и особенности используемой терминологии приводятся ниже.

Следует также помнить, что соседние клетки могут быть соединены посредством цитоплазматического мостика (перемычки), сформированного вследствие слияния мембран соседствующих клеток или их неполного отделения в ходе клеточного деления. В результате несколько ядер расположены в сплошной массе цитоплазмы. Такая синцитиальная организация обычно характерна для ранних этапов онтогенеза, но может сохраняться и во взрослом состоянии (симпластическая организация поперечно-полосатой мускулатуры). Кроме того, известно и о существовании таких соединений и между нейронами, в том числе и в пределах коры у млекопитающих.

Цитоплазма растительных клеток соединена посредством **плазмодесм** — специальных каналов, стенки которых образованы цитоплазматической мембраной, общей для контактирующих клеток. Таким образом, создается непрерывность цитоплазмы, что обеспечивает передачу раздражения и передвижение веществ от клетки к клетке, а скрепление клеток друг с другом происходит благодаря *срединной пластинке*, цементирующей клеточные стенки рядом расположенных клеток.

1.3.2. ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИНАПСЫ

Сегодня считается общепринятым, что клетки большинства тканей позвоночных и беспозвоночных животных способны контактировать со своими соседями посредством внутриклеточных структур, обладающих низким электрическим сопротивлением. У позвоночных только несколько типов клеток (красные клетки крови, сперматозоиды, клетки скелетных мышц) в высокодифференцированном (зрелом) состоянии не формируют контактов с указанными свойствами.

В историческом плане такие соединения впервые были охарактеризованы с функциональной точки зрения в 1957 г. в работе Э. Фершпана и Д. Поттера (E. Furshpan & D. Potter, 1957), посвященной изучению синаптической передачи в нервной системе речного рака. Обнаруженный ими тип контакта отличался от известных межнейронных соединений с химической передачей сигнала и получил название **электрического (электротонического) синапса**. Морфологические корреляты такого соединения (рис. 47) были обнаружены позднее, в 60-х гг. XX в., при помощи тонкослойной электронной микроскопии и применения техники замо-

раживания-скалывания. Участки межклеточных соединений, обеспечивающих электрическое соединение соседних клеток, получили название **щелевых контактов** (англ. *gap junction*).

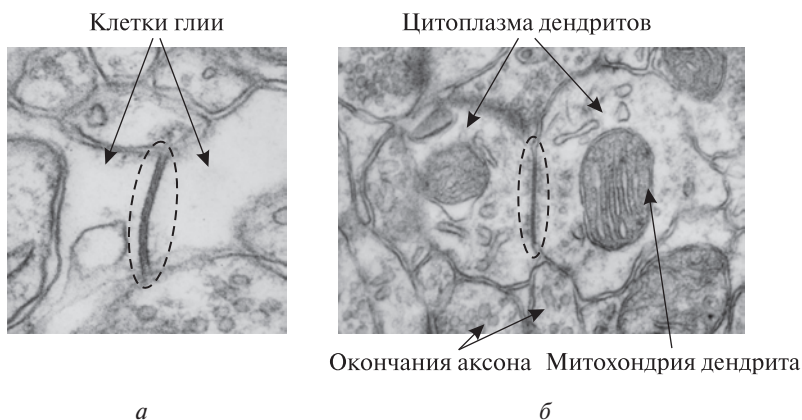


Рис. 47. Щелевые соединения (отмечены пунктиром) между клетками глии (*a*) и дендритами двух нейронов (*б*) (по Spacek, 2018)

В последующем выяснилось, что такой тип соединений встречается не только между клетками нервной, но и других тканей, где они известны под терминами *nexus* (сердечная мышца), *macula communicans* (гладкие мышцы, клетки эпителия).

Термин *gap junction* представляет собой оксиморон, впервые использованный в работе Ревела и Корнавского (Revel & Karnavsky) (1967) для описания визуализированного ими при помощи солей лантана соединения клеток — «...a minute gap between external leaflets...» (...малая щель между наружными слоями...), представлявших, по мнению авторов, структурные корреляты электрических соединений описанных Фершпаном и Поттером (Furshpan & Potter.)

Электронно-микроскопические исследования показали наличие характерных частиц в протоплазматической и комплементарных им углублениях в эктоплазматической областях щелевого контакта (рис. 48). Этот электронно-плотный материал проникает через щель, обеспечивая контакт в области плотного прилегания соседствующих мембран, будучи представленным почти во всех типах животных тканей. При этом размеры щели между внешними слоями плазмалеммы определялись от 2 до 4 нм, а общая толщина такого соединения — 15–19 нм. Уже начиная с самых ранних работ, было отмечено различие в размерах щели у беспозвоночных (3–4 нм) и позвоночных (2–3 нм).

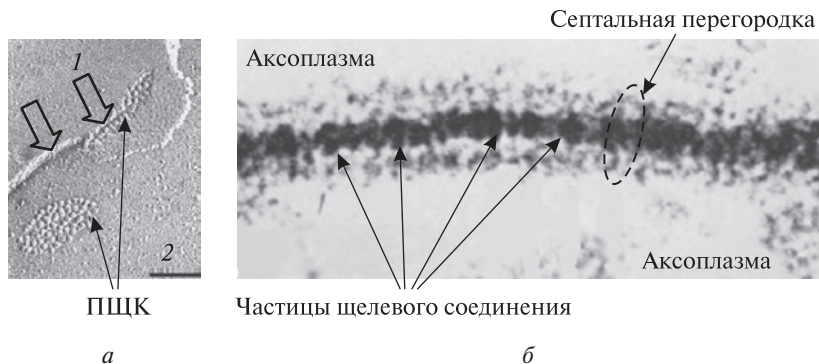


Рис. 48. Частицы щелевых соединений:

a – пластинки щелевых контактов (ПЩК) между нейронами *Helisoma* в культуре (по Guthrie c. a., 1994). Контакт сформирован между телом нейрона (1), содержащим эктоплазматические (Е) и дендритом (2), включающим протоплазматические (Р) частицы скола. Участки соприкосновения мембран отмечены контурными стрелками. Калибровочная линия – 250 нм;
б – электронно-плотные частицы в области септальных соединений латерального гигантского аксона речного рака *Cambarus clarkii* (по Peracchia, 1973)

Дальнейшие работы показали присутствие в этих местах специфических мембранных субъединиц (от нескольких единиц до тысяч в области контакта), расположение которых упорядочено и носит гексагональный или октогональный характер (рис. 49).

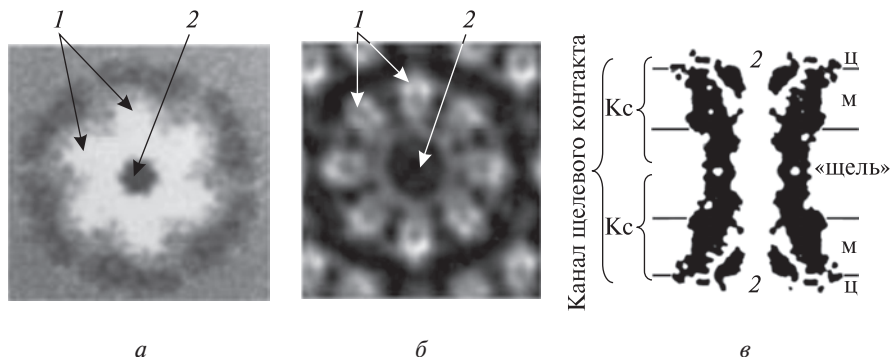


Рис. 49. Строение частиц щелевого контакта, по данным электронной микроскопии (*a* – по K. Stauffer c. a., 1991; *б* – по Oshima c. a., 2016) и рентгеноструктурного анализа (*в* – по Maeda, 2009):
 1 – субъединицы; 2 – поры;
 Кс – коннексон; ц – цитоплазма; м – мембрана

Расстояние между центрами таких соседних структур составляет 8–11 нм (8–9 нм для позвоночных, 10–11 нм для беспозвоночных), а их общая измеренная от края до края длина варьируется от 15 до 25 нм вне зависимости от видовой принадлежности.

Они получили название **коннексонов** (от англ. *connection* – соединение). Таким образом, в формировании щелевого контакта принимают участие два коннексона, состыкованные своими торцевыми участками в межклеточном пространстве. Коннексон, входящий в состав щелевого контакта, образует цилиндр с центрально расположенной водяной порой и фактически представляет собой полуканал щелевого контакта (рис. 50).

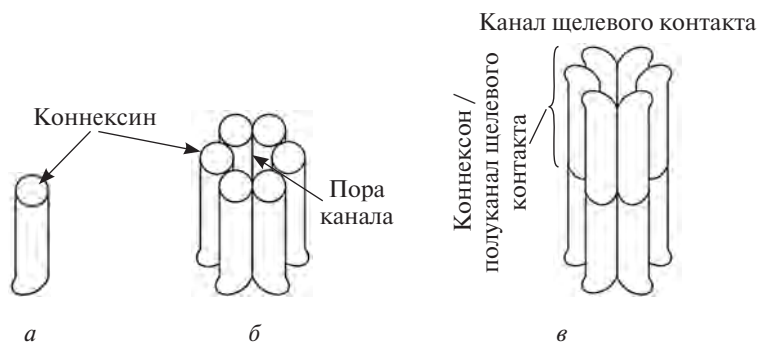


Рис. 50. Структурные компоненты щелевого соединения (по Goodenough & Paul, 2009)

Использование как различных методов электронной микроскопии, так и других методик структурной биологии (атомно-силовая микроскопия, рентгеноструктурный анализ) позволило с высоким разрешением (несколько ангстрем, Å) установить трехмерную структуру канала щелевого контакта (рис. 51).

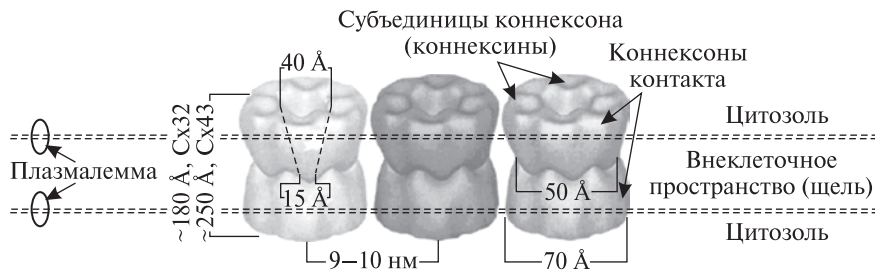


Рис. 51. Структура канала щелевого контакта, по результатам рентгеноструктурного анализа (по Perkins e. a., 1998)

Первое подобное изображение было получено в 1980 г. и характеризовало структуру щелевого соединения клеток печени млекопитающих.

Коннексон представляет собой полый цилиндр, стенки которого сформированы шестью белковыми субъединицами, расположенными вокруг центральной водной поры. Они способны смещаться относительно друг друга, контролируя таким образом проницаемость коннексона.

В начальных работах различали щелевые соединения А и В типов, определенные для позвоночных и беспозвоночных организмов соответственно. Следует также указать, что даже в пределах одного препарата имелись различия между структурами его щелевых соединений, обусловленные фиксацией коннексонов в разных конформациях (различных формах, определяющих их переход из открытого состояния в закрытое, т. н. gating states). Кроме того, существуют различия между разными электронно-микроскопическими препаратами щелевых контактов как для одного вида, так и разных видов, определяемые, помимо прочего (gating state), особенностями их изготовления, интерпретации данных и т. п.

Додекаметрический, т. е. содержащий 12 субъединиц, щелевой контакт состоит из двух 6-субъединичных колец (см. рис. 49, а) с внеклеточными, связанными друг с другом участками, формирующими два полуканала (коннексона). Поверхности коннексонов образуют плотное соединение друг с другом за счет стыкующего домена, что препятствует утечке частиц, переносящих заряд (ионов) во внеклеточное пространство. Наружный диаметр «типичных» коннексонов млекопитающих со стороны цитозоля составляет 70 Å, а с внеклеточной стороны — 50 Å. Диаметр поры колеблется от 40 Å (со стороны цитозоля) до 15 Å (в месте соединения двух полуканалов во внеклеточном пространстве). Со стороны цитозоля они могут быть соединены с цитоскелетом, будучи связанными с поддерживающими белками (например, ZO1, кальмодулинзависимая протеинкиназа II (CaMKII)).

Каналы щелевого соединения беспозвоночных сформированы **иннексонами** (от англ. *invertebrate* и *connection*) и имеют несколько иную гексадекамерную структуру (см. рис. 49, б). Стенка иннексона состоит из 8 субъединиц, а структура канала содержит 16 субъединиц, как это было установлено для канала Inx-6 почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans*. Его высота составляет 240 Å, диаметр поры (внутренний, со стороны интерстиция) — 40 Å, а наружный (со стороны цитозоля) — 115 Å. Как общее правило, можно утверждать, что иннексоны беспозвоночных больше и занимают большее пространство в сравнении с коннексонами позвоночных.

Размеры поры канала щелевого контакта таковы, что позволяют свободно проходить между клетками молекулам с массой до 1 кДа. При этом существует большая вариабельность в размере и типе молекул, способных проникать через щелевые соединения у разных животных и в разных тканях. Все щелевые контакты проницаемы для ионов и метаболитов малых размеров

(около 200 Да), а следовательно, служат путями распространения нервного импульса, представляющего движение заряженных частиц (ионов) от нейрона к нейрону. Коннексоны относятся к весьма динамичным мембранным структурам — время полужизни для Cx32 составляет ~5 ч, а для коннексонов смешанных синапсов маутнеровских нейронов мозга рыб — 1–3 ч, что сравнимо со временем обновления ионных каналов и синаптических рецепторов.

Иннексины формируют каналы, у которых проницаемость к большим молекулам выше по сравнению с коннексинами. Это было подтверждено в прямых экспериментах с использованием молекул различных размеров, но с одинаковыми свойствами (гликопротеиды с цепями галактозы разной длины).

Каждая субъединица коннексона (иннексона) состоит из четырех трансмембранных доменов, вторичная структура которых представлена белковой α -спиралью (всего в коннексоне их насчитывается 24), соединенных двумя внеклеточными петлями, содержащими высококонсервативные области остатков аминокислот (так называемые Cys-последовательности, т. е. остатки аминокислоты цистеина), внутриклеточной петлей и цитозольными N- и C-концевыми участками (рис. 52).

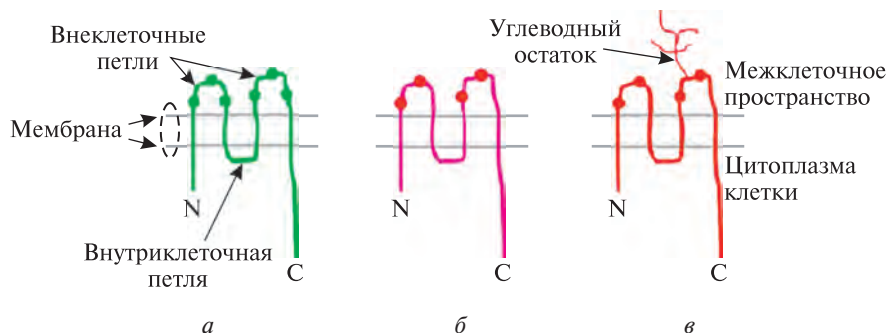


Рис. 52. Мембранная топография белков субъединиц полуканалов щелевого контакта (по Scemens e. a., 2009):

а — коннексин; б — иннексин; в — паннексин.

Консервативные последовательности аминокислот (Cys-последовательности) на участках внеклеточных петель обозначены кругами

Начало идентификации белков, а в последующем и их генов, образующих каналы щелевого контакта, приходится на 70-е гг. XX века. Белки позвоночных называются **коннексинами** (connexins, Cx), их насчитывается 20 изоформ, и они содержат 3 Cys-последовательности в каждой внеклеточной петле (рис. 52, а). Белки беспозвоночных именуются **иннексинами** (innexins, Inx), известно о существовании свыше 25 изоформ, включающих 2 Cys-последо-

вательности в каждой внеклеточной петле, более длинных по сравнению с таковыми у коннексинов и содержащих сайты гликозилирования (рис. 52, б). Отличия в размере различных изоформ белков щелевых контактов основаны на различной длине цитоплазматической петли и/или С-концевого участка.

Анализ нуклеотидных последовательностей генома млекопитающих выявил в их составе три гена, кодирующих образование белков, первичная аминокислотная последовательность которых имеет ~20 % гомологию с иннексинами беспозвоночных. Эти белки получили название *паннексинов* (pannexins, Pnx). Все три изоформы содержат 2 Cys-последовательности в каждой внеклеточной петле, а также гликозилированный участок одной из внеклеточных петель (рис. 52, в). Из-за присутствия углеводного остатка они оказываются неспособны сформировать полноценный канал щелевого контакта, требующий плотного соединения двух составляющих их компонентов. Паннексины образуют «обычный» трансмембранный канал, предназначенный для обмена между содержимым цитоплазмы и интерстицием. Такие же структуры могут образовывать и «полуканалы», сформированные коннексинами и иннексинами, «не нашедшие» контрпартнера на мембране соседней клетки.

Классификация коннексинов основана на молекулярной массе (в кДа) и месте обнаружения (*h* – human (человек), *r* – rat (крыса), *m* – mouse (мышь) и т. п.): *hCx32*. Кодирующие коннексины гены (*Gj*) именуются по субгруппам в порядке их открытия – *Gja1* кодирует Cx43, а *Gjb1* кодирует Cx32 и т. п.

Благодаря широкой распространенности коннексин 36 (Cx36) обычно рассматривается как «основной» коннексин щелевого соединения.

Известно о существовании у позвоночных 20 генов, кодирующих образование коннексинов. Несмотря на то что коннексины и иннексины сходны по своей структурной и мембранной топографии, их первичные аминокислотные последовательности не имеют черт гомологии. Гены коннексинов и иннексинов отличаются друг от друга позицией интронов в кодирующем регионе (рис. 53).

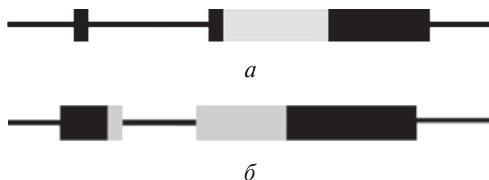


Рис. 53. Структура гена белков щелевого контакта (модифицировано по Perkins e. a., 1998):

а – коннексин; *б* – иннексин.

Экзоны – блоки, интроны – линии.

Кодирующие регионы – серые,

некодирующие – черные участки блока

«Типичный» ген коннексина содержит два экзона, разделенных участком, не представленным в и-РНК (интроном). Интронов в кодирующем (транслируемом) регионе у них нет в отличие от генов, ответственных за формирование иннексинов. Многочисленные вариации белков щелевых контактов у беспозвоночных являются результатом альтернативного сплайсинга одного и того же гена.

Следует понимать, что паттерн экспрессии белков щелевых контактов изменяется в ходе развития и в ответ на внешнее (стрессовое) воздействие.

В зависимости от конструкции щелевого соединения различают каналы (рис. 54):

- *гомотипические* — состоящие из идентичных, имеющих одинаковый набор субъединиц (коннексинов) коннексонов;
- *гетеротипические* — построены из коннексонов, имеющих отличный друг от друга набор субъединиц (коннексинов).

В свою очередь и сами коннексоны могут отличаться друг от друга по структурному признаку:

- *гомомерные* — состоят из коннексинов одной изоформы, т. е. их субъединицы не отличаются друг от друга;
- *гетеромерные* — сформированы коннексинами разных изоформ, т. е. их субъединичный состав не однороден.

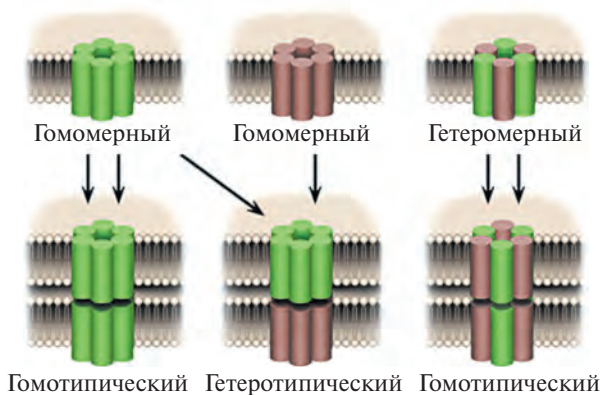


Рис. 54. Возможные типы конфигурации щелевого соединения (модифицировано по Pfaff & Volkow, 2016)

Такое потенциальное разнообразие коннексонов в составе щелевого контакта создает основу для многочисленных способов регуляции проводимости канала (полуканала) посредством различных внутри- и вне-

клеточных сигналов. Результатом будет изменение характера взаимосвязи контактирующих таким образом клеток, включая как ее полное прекращение, так и возможность одностороннего проведения сигналов, в том числе электрических, что делает их почти неотличимыми от классических синапсов химического типа.

Не все комбинации коннексинов в составе коннексона, равно как и комбинации коннексонов в канале щелевого соединения, разрешены. В частности, существование гомотипических каналов, образованных гетеромерными коннексонами (рис. 54, справа) в естественных условиях, требует экспериментального подтверждения.

Электрические синапсы могут сформироваться между любыми частями нервных клеток (аксоном и дендритом (сомой), дендритом и дендритом (сомой), сомой и сомой). Даже отдельные части одной и той же клетки, например в случае аутапса (см. далее) или при «соединении» разделенных миелином слоев цитоплазмы шванновских клеток в области перекрывающихся пластин миелина, окружающих перехват Ранвье мягкотных волокон, бывают связаны щелевым соединением (рис. 55).

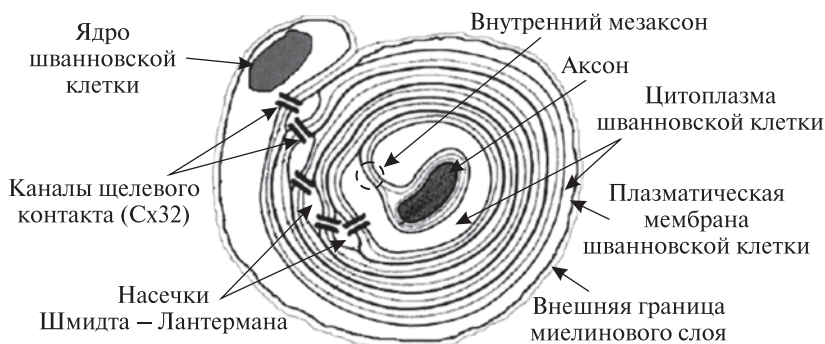


Рис. 55. Схема щелевых соединений миелиновой оболочки (модифицировано по Perkins e. a., 1998)

В функциональном плане (способности к передаче нервного импульса) электрические синапсы можно разделить на две основные группы:

- **двустороннего проведения** — электрические сигналы, изначально возникающие в одной из клеток контакта, беспрепятственно (за исключением определенных потерь в амплитуде) передаются через область щелевого соединения в любом направлении, т. е. вне зависимости от места их начальной генерации;

- **одностороннего проведения** — выпрямляющие контакты, обеспечивающие передачу электрического импульса преимущественно в одном направ-

лении. Известно и о существовании электрических контактов с двойным электрическим выпрямлением. В этом случае «предпочтение» в передаче электрического сигнала к постсинаптической клетке отдается или положительным (переход волны деполяризации), или отрицательным (переход волны гиперполяризации) импульсам.

Именно щелевые контакты одностороннего проведения были впервые обнаружены Э. Фершпаном и Д. Поттером, а открытие электрических синапсов двустороннего проведения датируется несколькими годами позже.

Следует отчетливо понимать, что в случае щелевого соединения электрические сигналы при переходе от одной клетки к другой не изменяют своей направленности (знака). Волна деполяризации, возникшая в одной из них и переводящая такую клетку в активное состояние, не может привести к развитию гиперполяризации, т. е. развитию торможения, в соседнем нейроне, а только к его схожей деполяризации. В свою очередь, возникающая как отражение тормозных процессов, волна гиперполяризации может спокойно перейти на соседнюю клетку, сохраняя свою полярность, т. е. привести к распространению торможения. Указанное положение дел во многом делает бессмысленным подразделение электрических контактов на возбуждающие или тормозные, как это происходит в отношении химических синапсов.

1.3.3. ХИМИЧЕСКИЕ СИНАПСЫ

Согласно классическому определению синапсы представляют собой специализированные функциональные контакты между клетками возбудимых тканей, используемые как пути для передачи и преобразования нервных импульсов. Термин «синапс» (от греч. *synapsis* — соединение, связь) ввел в научный обиход Ч. Шеррингтон (C. Sherrington, 1897).

Само слово было предложено Ч. Шеррингтону одним из его друзей, А. В. Веггалом (A. W. Verrall), преподавателем греческого языка.

Уже упоминалось о существовании как минимум двух типов синапсов — электрических и химических, однако нередко в узком смысле слово «синапс» обозначает именно соединения с использованием химического способа передачи сигнала между клетками. Характерная особенность соединений по типу химического синапса — наличие относительно широкого (10–30 нм) промежутка (об особенностях организации этого отнюдь не «пустого пространства» см. далее) между контактирующими клетками. Следствием этого является невозможность прямой передачи электрического сигнала от клетки к клетке (благодаря шунтирующему действию обладающей низким электрическим сопротивлением внеклеточной

жидкости). Указанное затруднение было разрешено за счет использования химических веществ в механизмах передачи сигнала. В результате сформировалась оригинальная морфологическая структура (рис. 56).

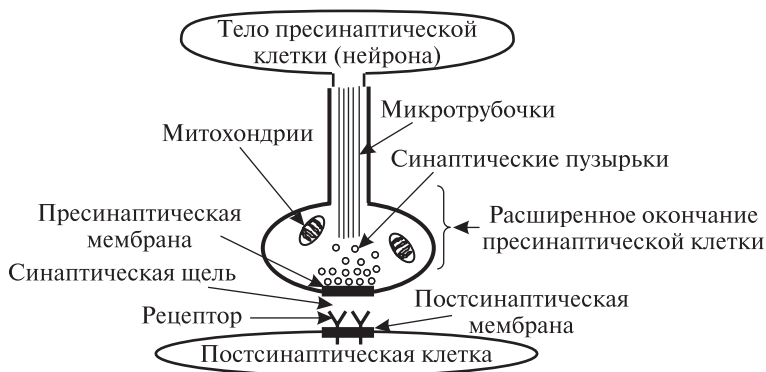


Рис. 56. Структура химического синапса (схема).
Пропорции не соблюдены

Общее число синапсов в мозге человека на несколько порядков превышает число нейронов и клеток глии. По некоторым оценкам, оно составляет 10^{14} – 10^{15} , из них примерно треть приходится на долю коры больших полушарий головного мозга. Совершенно очевидно возможное разнообразие морфологических типов таких соединений.

В обобщенном химическом синапсе различают несколько составных частей.

1. **Пресинаптическая** часть обычно представляет собой расширенное окончание нейрона (аксон), хотя компоненты, обеспечивающие выделение сигнальной молекулы, могут быть расположены и в области дендритов, а также тела нервной клетки (рис. 57).

Пресинаптические нервные окончания, представленные ветвящимся аксоном, образуют концевые утолщения — плоской (бляшки) или конусообразной (бутоны) формы, заполненные многочисленными *синаптическими пузырьками* (везикулами), содержащими химическое вещество (нейромедиатор и/или нейромодулятор). Среди возбуждающих синапсов гиппокампа ~75 % таких бутонов образуют одинарный синапс (с одним участком соседствующей клетки), ~21 % формируют множественный контакт (с несколькими участками соседствующей клетки), а ~4 % и вовсе «не находят» точки соприкосновения с выростами дендритов (шипиками).

Последняя группа представляет своеобразный резерв, используемый для ускорения возможного образования новых синапсов (не требуется формирования аксональных бутонов *de novo*). В случае тормозных синаптических

ских контактов пресинаптические терминали аксонов часто образуют небольшие вздутия (варикозные расширения), напрямую соприкасающиеся с телом другого нейрона.

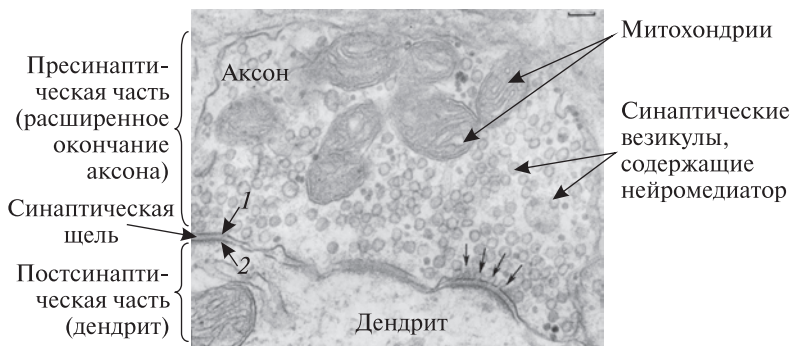


Рис. 57. Химический синапс между нейронами спинного мозга кошки (модифицировано по Учизоно, 1980):

1 – пресинаптическая мембрана; 2 – постсинаптическая мембрана.

Слияние везикул с пресинаптической мембраной отмечено стрелками.

Калибровочная линия (верхний правый угол) – 100 нм

В гладких мышцах норадренергические нервные волокна ветвятся среди и вдоль мышечных клеток. Выделение нейромедиатора происходит из расширенных участков нервного волокна (рис. 58). Подобные аминергические расширения волокон (аксоны *en passant*) обнаружены и в ЦНС. При этом далеко не все они формируют в итоге структуру классического синапса, а действие нейромедиатора в данном случае носит паракринный характер.

Нейронные сети мозжечка также характеризуются разнообразием морфологических типов окончаний аксонов – от очень крупных «розеток» моховидных волокон, формирующих контакт одновременно с несколькими дендритами клеток-зерен (~1 : 20), до множественных синаптических бутонов лазающих волокон сходящихся на проксимальном участке дендрита клеток Пуркиньи и одиночных соединений между отростком клеток-зерен (одиночным параллельным волокном) и дендритным шипиком клетки Пуркиньи.

Синаптические пузырьки окончаний нейрона представляют окруженные мембраной структуры со средним диаметром от 40 до 90 нм. Везикулы бутонов аксона в основном относятся к «резервному» пулу этих органелл в отличие от связанных пузырьков (англ. *docked vesicles*), контактирующих с пресинаптической мембраной в *активной зоне синапса*. Именно эти везикулы непосредственно выбрасывают свое содержимое в синаптическую щель (см. рис. 57). Как правило, они немного меньше по сравнению с резервными синаптическими пузырьками.

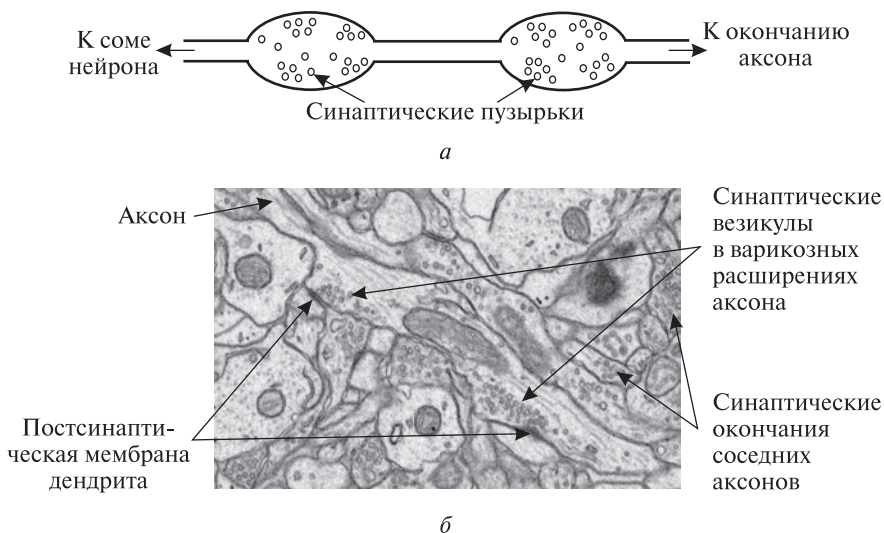


Рис. 58. Схема (а) варикозных расширений и аксон *en passant* (б) (по Spasek, 2018)

Везикулы, содержащие глутамат, круглые и прозрачные, при среднем диаметре ~35 нм. Сходны с ними и пузырьки холинергических синапсов (20–40 нм) в отличие от более электронноплотных везикул, содержащих моноамины и особенно норадреналин (50–90 нм). Нейропептиды также накапливаются в очень крупных по размеру плотных пузырьках (~100 нм). Везикулы, содержащие тормозные нейромедиаторы (ГАМК или глицин), уплощены или имеют дискообразную форму, а их размеры несколько уступают таковым для органелл возбуждающих глутаматергических синапсов (рис. 59).

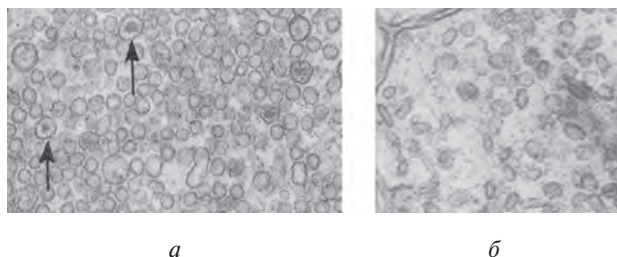


Рис. 59. Формы синаптических везикул возбуждающих (а) и тормозных (б) химических синапсов.

Крупные, содержащие электронноплотное вещество, везикулы отмечены стрелкой (модифицировано по Учизоно, 1980)

Основными белковыми молекулами активной зоны являются компоненты клеточного матрикса — Bassoon и Piccolo, а также многочисленные потенциал-, лиганд-управляемые, Ca^{2+} -зависимые ионные каналы и транспортеры сообразно той роли, которую они играют при выделении нейромедиатора. Кроме того, здесь широко представлены белки, способствующие связыванию везикул с элементами цитоскелета (синапсины), выбросу их содержимого (кальций-зависимый активирующий белок секреции (calcium-dependent activated protein for secretion, CAPS)), а также протеинкиназы, модифицирующие свойства SNARE-белков, обеспечивающих сам процесс слияния синаптических пузырьков с пресинаптической мембраной.

Форма и размеры везикул являются крайне ненадежным диагностическим критерием содержащихся в них нейромедиаторов. В частности, плоская форма ГАМК-содержащих пузырьков может быть следствием особенностей приготовления препарата для электронной микроскопии, связанных с фиксацией образцов ткани в глutarовом альдегиде. Быстрая заморозка препарата, лучше сохраняющая его нативную структуру, позволяет получить доказательства округлой формы таких структур. Более того, в составе популяции синаптических везикул, содержащих глутамат, встречаются и большие (>60 нм) пузырьки, выброс содержимого которых ассоциируется с возникновением сверхвысоких по амплитуде возбуждающих постсинаптических потенциалов. Некоторые аксональные бутоны глутаматергических синапсов (~20 %) содержат немногочисленные (1–10) электронноплотные везикулы диаметром ~80 нм. Предполагается, что они могут участвовать в формировании новых активных зон аксона при синаптогенезе. Кроме того, синаптические пузырьки могут содержать несколько нейромедиаторов — основной и котрансммитер, в качестве которого могут выступать химические вещества, обладающие «самостоятельным» синаптическим эффектом (например, моноамины в случае глутамат- и (ГАМК-) эргической передачи, АТФ в холинергических синапсах и т. п.).

Первично-сенсорные клетки органа зрения (палочки и колбочки), уха и равновесия (волосковые клетки внутреннего уха) способны обеспечить градуированные (в зависимости от интенсивности воздействия) изменения мембранного потенциала связанных с ними отростков чувствительных нейронов в ответ на сенсорный стимул. Для этого должна существовать возможность высвобождать кванты нейромедиатора (синаптические пузырьки) с высокой скоростью за определенный период. В активной зоне таких синапсов, рядом с Ca^{2+} каналами, строго напротив скоплений глутаматных рецепторов постсинаптической мембраны расположен белковый компонент, присоединенный к мембране (перпендикулярен ей и направлен в сторону цитоплазмы) — лента. Синапсы такого типа (рис. 60) получили название **лентовидных** (англ. *ribbon synapses*).

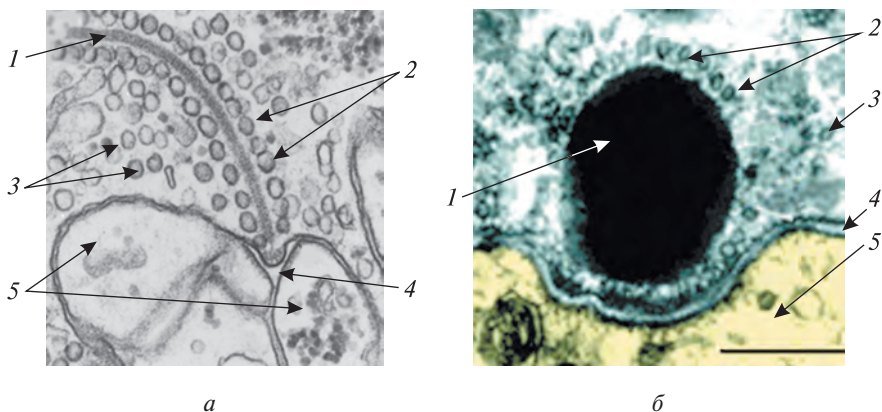


Рис. 60. Лентовидные синапсы:

а — плоская лента в палочках сетчатки саламандры;

б — сферическая лента в волосковой клетке пятна

сферического мешочка лягушки (по LoGiudice & Matthewso, 2009):

1 — лента; 2 — связанные с лентой везикулы; 3 — не связанные с лентой везикулы;

4 — синаптическая щель; 5 — дендриты постсинаптической клетки (нейрона).

Калибровочная линия — 300 нм (*б*)

Форма лент бывает различна, как правило, их длина (в направлении цитоплазмы) не превышает 0,5 мкм, а толщина составляет ~30 нм. В колбочках сетчатки млекопитающих они способны удерживать на себе ~3000 везикул, из которых ~600 относятся к связанным пузырькам (для палочек эти цифры составляют ~640 и 130 соответственно). Лента построена из специфического белка — RIBEYE, который при помощи белка Bassoon соединяется с плазматической мембраной. Такая конструкция способна поддерживать мультивезикулярный продолжающийся экзоцитоз, связанный с захватом везикул в цитоплазме и транспортом их в места высвобождения на плазматической мембране.

Микротрубочки, широко представленные в структуре аксона, относительно редки в области его бутонов, особенно в постоянно «активных» синапсах. Возможно, это связано с тем, что кальциевые потоки (возрастание локальной концентрации ионов Ca^{2+} как следствие работы механизмов, обеспечивающих слияние синаптических везикул с пресинаптической мембраной) вызывают деполимеризацию микротрубочек при нормальных условиях. Митохондрии в синаптических окончаниях аксонов разбросаны достаточно гетерогенно — в области CA1 гиппокампа их содержат только 40 % бутонов. С другой стороны, крупные аксональные бутоны гиппокампальных нейронов могут включать одновременно несколько митохондрий.

Кроме того, здесь также отмечены и *эндосомы*, содержащие «отработавшие» белки пресинаптической области, предназначенные для транспортировки в тело нейрона для последующей их деградации.

Исследования культуры клеток гиппокампа показали, что для выделения нейромедиатора требуется **локальный синтез белка**, однако комплексов полирибосом в области аксональных бутонов обнаружено не было. Тем не менее локальный синтез белка, по всей видимости, является характерной чертой пресинаптических участков. В частности, на срезах мозга взрослых мышей и нейронах гиппокампа крыс, культивированных в течение 18–21 дней *in vitro*, рибосомы (рибосомные белки, 18S и 28S рРНК) были обнаружены в подавляющем большинстве (>75 %) как возбуждающих, так и тормозных пресинаптических нервных окончаниях (Hafner e. a., 2019).

Идея о возможности белкового синтеза в аксонах высших позвоночных достаточно долго пробивала право на существование. С одной стороны, значительная часть белкового окружения и его ремоделирование происходит в области синапса, синтез белка характерен для дендритов зрелых нейронов, процессы локальной трансляции являются необходимым условием для роста аксонов в ходе онтогенеза и их восстановления после повреждения (травмы) нерва, а аксоны беспозвоночных напрямую способны синтезировать белки. С другой стороны, по настоящее время не существует надежной методики идентификации рибосом в составе аксона, а потребность в любых белковых компонентах может быть удовлетворена за счет активности систем аксонального транспорта. Кроме того, в гигантских аксонах кальмаров источником новых белковых компонентов являются клетки глии, окружающие синаптические соединения нейронов. Однако в отношении синапсов млекопитающих вопрос о том, являются ли астроциты пресинаптической области источником локального синтеза белка, остается открытым.

2. Синаптическая щель представляет собой участок межклеточного пространства, отделяющий пресинаптическую мембрану от постсинаптической. Ее размеры между центральными нейронами млекопитающих варьируют от ~12 нм (контакты тормозного типа) до ~20 нм (возбуждающие синапсы).

Обычно такое определение невольно навевает представление о синаптической щели как о пустом пространстве, которое требуется преодолеть молекулам нейромедиатора до того, как они присоединятся к рецепторам постсинаптической мембраны. В действительности химический синапс можно определить и как высокоспециализированный слипающийся контакт, а следовательно, в пределах синаптической щели оказываются расположенными многочисленные структуры, обеспечивающие соединение (скрепление) клеток друг с другом (рис. 61).

Среди молекул, обеспечивающих соединение пре- и постсинаптических мембран, можно отметить белки семейства иммуноглобулинов, интегрины, нейролигины/нейрексыны, эфрины / эфриновые рецеп-

торы. Помимо поддержания структурной организации синаптических контактов эти молекулы принимают активное участие в формировании синапсов (синаптогенезе) и в механизмах синаптической пластичности, обеспечивая изменение эффективности синаптической передачи между клетками и ее сохранность в течение длительного промежутка времени. Многочисленные синаптические молекулы клеточной адгезии (synaptic cell adhesion molecules, S-CAM), нектины, кадгерины, опорные молекулы синапса (synaptic scaffold molecules, S-SCAM), протокадгерины и сопрягающие белки (α - и β -катенины) широко представлены в краевых участках синаптической щели, где они образуют точки слипания (*puncta adherens*) синапса.

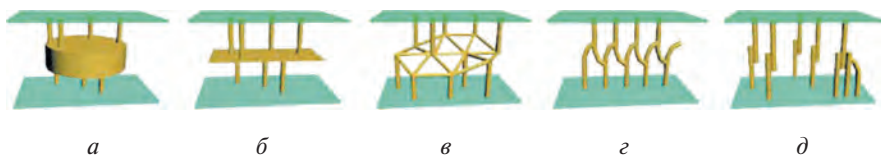
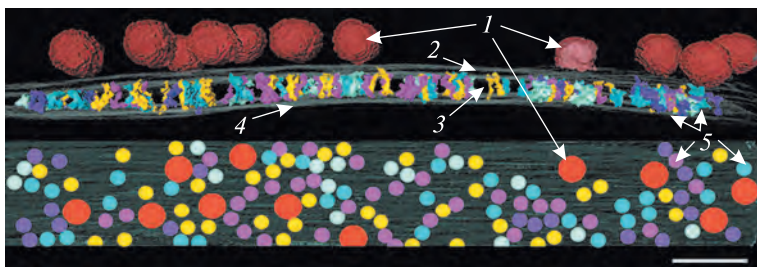


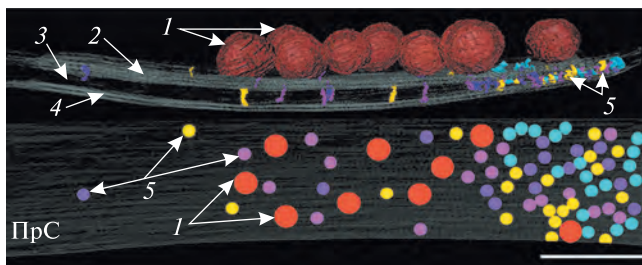
Рис. 61. Модели структурной организации комплексов синаптической щели (по Lucic e. a., 2005):
 а – объемная (*volume*); б – бляшка (*plaque*); в – сеть (*net*);
 г – застежка (*zipper*); д – транс-димер (*trans-dimers*)

Молекулярная композиция, заполняющая пространство синаптической щели, отличается для возбуждающих и тормозных контактов. Так, в случае возбуждающих синапсов гиппокампа крыс насчитывается пять типов, различающихся по форме и размерам, молекул, плотно и равномерно заполняющих пространство синаптической щели. Для тормозных синапсов этой же области мозга было выявлено несколько меньшее качественное разнообразие (четыре типа) и количественное присутствие (в 1,5–2 раза) таких частиц. Они оказываются сосредоточенными преимущественно на периферии (одном из краевых участков) синаптической щели, где расстояние между пре- и постсинаптической мембранами может сокращаться двукратно (до ~6 нм от исходных 12 нм). Второй край синаптической щели остается при этом открытым. Это позволяет обеспечить доставку встроенных в находящиеся за пределами синапса участках плазмалеммы новых молекул рецептора непосредственно в область постсинаптической мембраны. В то время как в случае возбуждающих синапсов встраивание новых рецепторов происходит со стороны цитозоля, непосредственно прилегающего к постсинаптической мембране.

В обоих исследованных типах синапсов рассматриваемые частицы никогда не располагались под областью прикрепления синаптических везикул активной зоны (рис. 62).



a



б

Рис. 62. Расположение синаптических везикул и компонентов синаптической щели в возбуждающих (*a*) и тормозных (*б*) синапсах гиппокампа крыс (по Higt e. a., 2015):

1 – везикулы; *2* – пресинаптическая мембрана; *3* – синаптическая щель;

4 – постсинаптическая мембрана; *5* – частицы синаптической щели
Верхняя часть каждого рисунка – вид сбоку (объемная реконструкция), нижняя – проекция на пресинаптическую мембрану (ПрС).

Синаптические везикулы – большие красные круги, частицы, расположенные в синаптической щели – разноцветные круги малого диаметра. Линия калибровки – 50 нм

Фактически это может означать формирование своеобразного «субканала», обеспечивающего доставку кванта нейромедиатора к рецепторам постсинаптической мембраны с минимальным «рассеиванием» его молекул в пространстве синаптической щели.

3. Постсинаптическая часть образована участком плазматической мембраны другой клетки, содержит встроенные белковые молекулы (рецепторы), способные обратимо связываться с нейромедиатором, вызывая впоследствии генерацию электрического импульса в постсинаптическом нейроне.

С рецепторами связаны компоненты постсинаптической плотности (post-synaptic density, PSD), электронно-плотного образования, прости-

рающегося в глубь цитоплазмы на $\sim 35\text{--}50$ нм, как правило, в синапсах возбуждающего типа, содержащих глутамат в качестве нейротрансмиттера (рис. 63, *а*). Обычно справедливо говорить о высокой корреляции протяженности активной зоны пресинаптической части и постсинаптической плотности. По данным протеомики, в ее составе находятся сотни белков (~ 460 , но с учетом «загрязненности» препарата белками соседних областей это число обычно снижается до ~ 300), суммарной массой ~ 1 млрд Да (!). В глутаматергических синапсах основным поддерживающим белком является PSD 95.

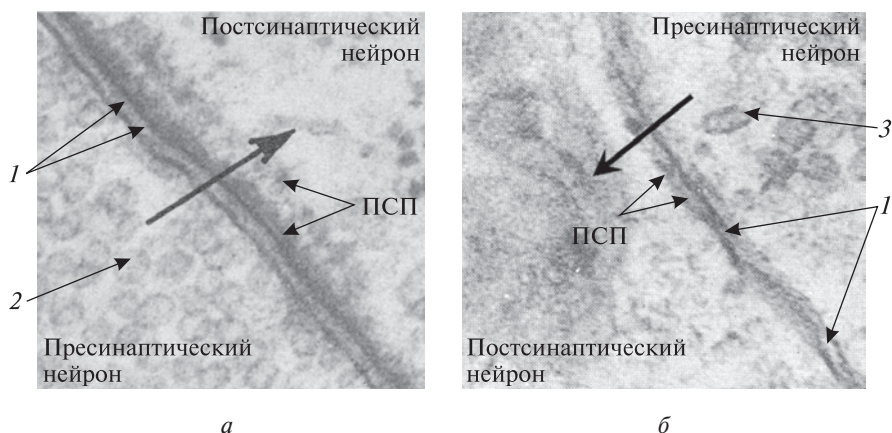


Рис. 63. Постсинаптическая плотность (ПСП) в возбуждающих (*а*) и тормозных (*б*) синапсах (по Учизоно, 1980):

- 1 – синаптическая щель; 2 – синаптические везикулы сферической формы (S-везикулы);
- 3 – уплощенные синаптические везикулы (F-везикулы).

Отдельная стрелка указывает направление передачи сигнала через синапс (от пресинаптического нейрона к постсинаптическому)

В случае тормозных синаптических контактов, медиатором в которых выступает ГАМК или глицин, постсинаптическая плотность в центральных нейронах обычно не выражена (рис. 63, *б*). При этом число внутриклеточных белков, связанных непосредственно с рецепторами постсинаптической мембраны, не превышает десятка. Из них наиболее заметными являются *гефирин* и *профиллин*, обеспечивающие связывание рецепторов с элементами цитоскелета.

В последние десятилетия широкое распространение получило представление о химическом синапсе как трехсторонней структуре – концеп-

ция **трехстороннего синапса** (*tripartite synapse concept*), которая помимо классических пре- и постсинаптических компонентов (нейронов) включает глиальную клетку (астроцит) (рис. 64).

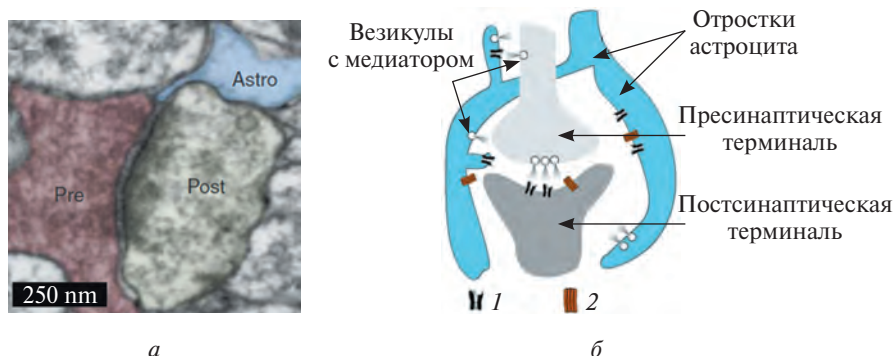


Рис. 64. Трехсторонний синапс (по Chun e. a., 2015):
a – отросток астроцита (*Astro*) в области синаптического контакта (*Pre* – пре-, *Post* – постсинаптический нейрон) в зрительной коре мыши; препарат раскрашен искусственно, калибровочная линия – 250 нм;
б – схема химических связей трехстороннего синапса:
 1 – ионотропные рецепторы; 2 – метаботропные рецепторы

Известно, что астроциты тесно связаны с мембранами нейронов, а их мембраны полностью или частично покрывают пресинаптические терминали и постсинаптические структуры (см. также описание структуры смешанных синапсов, рис. 71).

Примерно 60 % всех аксо-дендритных синапсов в гиппокампе окружены астроглиальными мембранами, а в мозжечке каждая клетка Бергмана охватывает от 2 до 6 тыс. синапсов, образованных параллельными волокнами на дендритах нейрона Пуркинье.

Таким образом, астроглия принимает непосредственное участие в регуляции и контроле связей нейронных сетей мозга посредством образования, созревания, поддержания и стабилизации синаптических контактов. В отсутствие астроцитов образование синапсов значительно подавлено, т. е. они ограничивают количество последних в мозге за счет секреции определенных факторов и/или протеолитических ферментов, которые разрушают внеклеточный матрикс, снижая стабильность синапса. Созревание синапсов также контролируется клетками глии – холестерин является строительным материалом для новых мембран, специфические белки (агрин) необходимы для образования синапсов, ростовые факторы (TNF α) определяют плотность постсинаптических рецепторов и т. д.

1.3.4. КЛАССИФИКАЦИЯ ХИМИЧЕСКИХ СИНАПСОВ

В зависимости от морфологии (рис. 65) контактирующих пре- и постсинаптических мембран различают центральные синапсы двух типов (по Gray, 1961, 1963):

- **асимметричные**, или синапсы 1-го типа;
- **симметричные**, или синапсы 2-го типа.

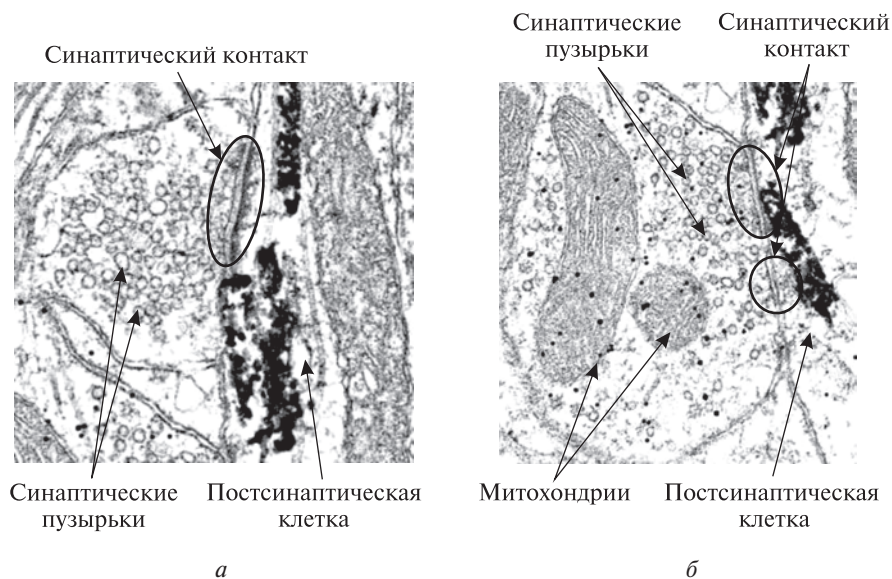


Рис. 65. Химические синапсы 1-го и 2-го типов (по Wang e. a., 1999):

а — асимметричный синапс; *б* — симметричный синапс.

Темное электронно-плотное вещество маркирует постсинаптическую клетку

Структурные различия между ними сводятся к следующему:

- синаптическая щель у синапсов 1-го типа шире (до 30 нм) синаптической щели синапсов 2-го типа (10–20 нм);
- постсинаптическая мембрана синапсов 1-го типа толще и плотнее (в современных терминах это означает наличие ярко выраженной постсинаптической плотности);
- синапсы 1-го типа длиннее (протяженность синаптических мембран составляет 1–2 мкм, и они более выражены), а синапсы 2-го типа короче (1 мкм, и уплотнение их синаптических мембран не столь выражено);
- синаптические пузырьки многочисленны в синапсах 1-го типа, имеют округлую форму (30–60 нм в диаметре), а в синапсах 2-го типа они

овальной или дисковидной формы, менее многочисленны, их размер составляет 10–30 нм;

- в синаптической щели синапсов 1-го типа (ближе к постсинаптической мембране) расположена бляшка из внеклеточного вещества.

Как правило, асимметричные синапсы (1-го типа) представлены преимущественно аксо-дендритными соединениями (см. ниже), используют в качестве нейромедиатора глутамат и являются возбуждающими. Симметричные синапсы (2-го типа) – аксо-соматические, нейромедиатором в них служит γ -аминомасляная кислота (ГАМК), и они являются тормозными. Количественное соотношение синапсов 1-го и 2-го типов составляет 4 : 1.

Рассмотренные связи структуры и функции не являются абсолютными, структурный и функциональный критерии продолжают сохранять свою самостоятельность для точного определения типа синапса.

Многочисленные отростки нервных клеток взаимодействуют между собой, образуя разнообразные контакты в пределах нервной системы. Различают следующие типы таких соединений (рис. 66):

- аксо-дендритные (в том числе аксо-шипиковые);
- аксо-аксональные;
- аксо-соматические;
- дендро-дендритные;
- дендро-соматические;
- сома-соматические.

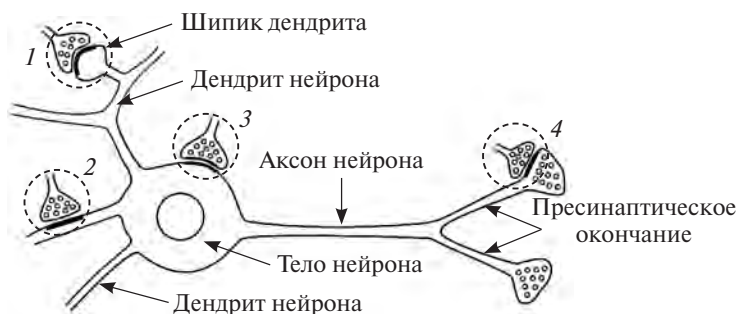


Рис. 66. Типы межнейронных синапсов:
1 – аксо-шипиковый; 2 – аксо-дендритный;
3 – аксо-соматический; 4 – аксо-аксональный синапс

Своеобразным типом возможных контактов является **аутапс** (англ. *autapse*) – аксон нейрона формирует синапс (химический (возбуждающий, глутаматергический или тормозный, ГАМК-ергический) или электрический) на собственном дендрите. Впервые его описание было дано в работе

Ван дер Лооса (Van der Loos) и Глейзера (Glaser)(1972). Встречаются среди нейронов неокортекса, неостриатума, спинного мозга. Его формирование связывают с повреждением аксона или нарушением синаптогенеза. В таких случаях собственный дендрит «помогает» восстановлению обеспечивающих выброс нейромедиатора внутриклеточных систем аксона (рис. 67).

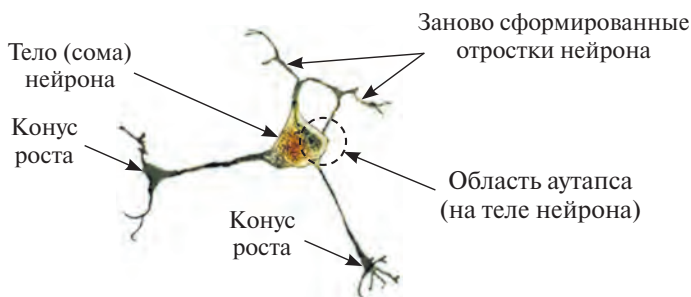


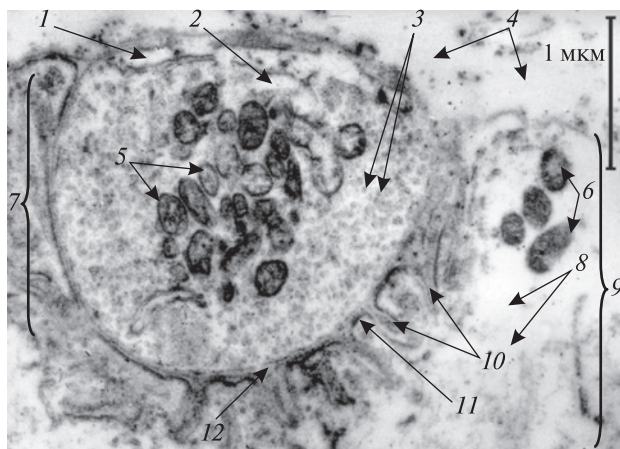
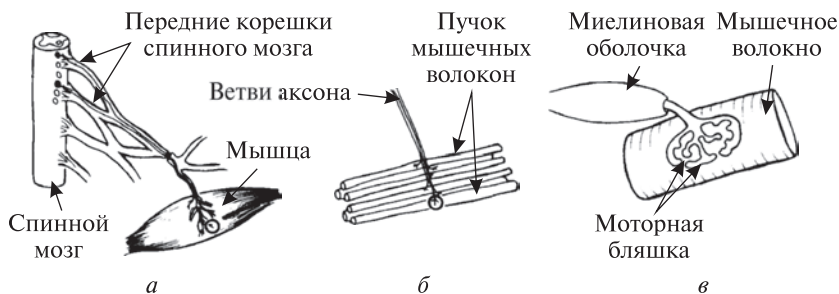
Рис. 67. Аутапс в культуре нейронов моллюска *Lymnaea stagnalis*

До 80 % развивающихся пирамидных нейронов V слоя новой коры больших полушарий мозга крыс содержат аутапсы.

Нервно-мышечные и нервно-железистые соединения (рис. 68) представляют собой контакты, принципиально не отличающиеся от аксо-соматических (аксо-дендритных) синапсов в пределах нервной системы. В обоих случаях длинный отросток нейрона (аксон) образует контакт с телом постсинаптической клетки (мышечной или железистой). У млекопитающих основу таких контактов составляют аксоны мотонейронов передних рогов спинного мозга (скелетная поперечно-полосатая мускулатура) и постганглионарных нейронов автономной нервной системы (гладкая мускулатура и железистый эпителий). Окончания аксонов, иннервирующих поперечно-полосатые мышечные волокна, формируют небольшие утолщения — *моторные бляшки*, проникающие под базальную пластинку и вдавливающиеся в мембрану мышечного волокна (*миона*). Один аксон может обеспечить иннервацию от десятка до сотен мышечных волокон благодаря образованию ветвей и бляшек.

Большинство мышечных волокон млекопитающих иннервируются одним аксоном, формирующим один синапс.

В области моторных бляшек миелиновая оболочка исчезает, хотя шванновские клетки сохраняются в участках, примыкающих к оголенным окончаниям аксонов. Они способны к фагоцитозу остатков нервных окончаний при их повреждении и даже выделению ацетилхолина в случае денервации мышцы.



г

Рис. 68. Структура нервно-мышечного синапса позвоночных:

а – отростки мотонейронов передних рогов спинного мозга следуют в составе соматических нервов к поперечно-полосатой мускулатуре;

б – ветви аксона двигательного нейрона, иннервирующие пучок мышечных волокон (двигательная единица); *в* – отдельное окончание ветви аксона, утрачивающее миелиновую оболочку и иннервирующее одиночное мышечное волокно (*а–в*, по Hall & Sanes, 1993);

г – нервно-мышечный синапс ящерицы (по Robertson, 1956):

1 – шванновская клетка; 2 – аксоплазма; 3 – синаптические везикулы;

4 – интерстиций; 5 – митохондрии нервного окончания;

6 – митохондрии мышечного волокна; 7 – нервное окончание (аксон);

8 – саркоплазма; 9 – мышечное волокно; 10 – Т-трубочки;

11 – постсинаптическая мембрана; 12 – синаптическая щель

В цитоплазме бляшек находятся многочисленные светлые содержащие ацетилхолин (в качестве комедиатора они могут включать АТФ) везикулы (~50 нм) и более крупные электронно-плотные пузырьки, заполнен-

ные нейропептидами, а также митохондрии. Выраженная синаптическая щель (~50 нм) содержит базальную пластинку, служащую для фиксации ацетилхолинэстеразы (фермента, разрушающего ацетилхолин) и молекул адгезии, способствующих удержанию нервного волокна возле мышцы. Она отделяет окончание аксона от постсинаптической части нервно-мышечного соединения, представляющую собой складчатую структуру (субневральный аппарат) — систему Т-трубочек миоона, насыщенных рецепторами к ацетилхолину.

По функциональному значению синапсы, как и нейроны, могут быть *возбуждающими* или *тормозными* в зависимости от того, стимулируют они или подавляют электрическую активность постсинаптической клетки. Здесь важно подчеркнуть, что в отличие от электрических синапсов развитие торможения (волны гиперполяризации) в постсинаптической клетке связано с усилением электрической активности пресинаптического нейрона. Кроме того, химические синаптические контакты классифицируются и на основании *типа используемого нейромедиатора* (см. подразд. 3.1).

Завершая описание строения химических синапсов, следует подчеркнуть еще одну особенность использования термина «синапс» (рис. 69).

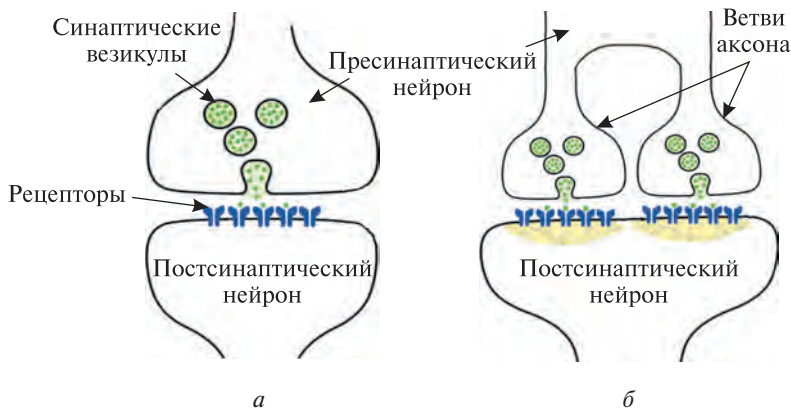


Рис. 69. Схема строения гомотипического (а) и гетеротипического (б) синапса

В широком смысле под ним понимают контакт между клетками, представляющими собой одно физическое соединение (*гомосинаптическое*). Однако очень часто ветвление аксона приводит к тому, что контакт между клетками устанавливается более чем в одном участке соприкосновения их мембран (*гетеросинаптическое соединение*). К каждому из таких соединений также, оказывается, применим термин «синапс» в узком смысле этого значения.

Очевидно, что свойства таких контактов могут разительно отличаться, поскольку в случае гетеросинаптического соединения синаптическая интеграция будет носить заведомо более сложный характер. Даже в случае гомосинаптического соединения в пределах одного синаптического бутона возможно формирование нескольких активных зон (так называемый *перфорированный синапс*), каждую из которых можно рассматривать в качестве самостоятельного синапса (рис. 70).

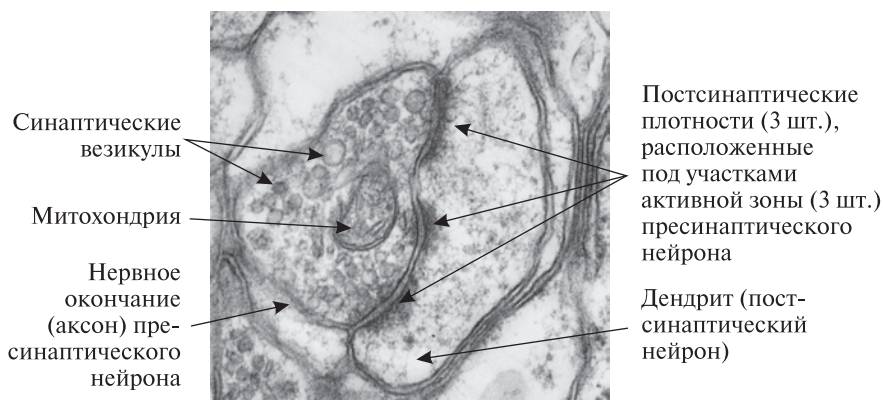


Рис. 70. Перфорированный синапс (по Spacek, 2018)

Подобные расхождения в понимании термина «синапс» могут вносить путаницу при описании природы взаимодействия между нейронами, поэтому их следует обязательно различать. В целом гомосинаптические соединения характерны скорее для нервно-мышечных соединений, да и то с известными оговорками в плане степени ветвления двигательного аксона (см. выше). Центральные межнейронные синапсы обычно относятся к ярко выраженным гетеросинаптическим соединениям.

1.3.5. СМЕШАННЫЕ СИНАПСЫ

Особую морфологическую группу представляют синапсы со смешанным (электрохимическим) механизмом передачи сигнала. Как и в случае с электрическими синапсами, их функциональные характеристики были описаны раньше тонких морфологических деталей.

Одним из характерных примеров таких контактов является чашевидный синапс ресничного узла (*ciliary ganglion*) цыпленка, подробное описание строения которого было дано А. де Лоренцо (De Lorenzo, 1960). В этом случае (рис. 71) расширенная часть отростка пресинаптического

(преганглионарного) нейрона более чем на половину окружает тело постсинаптической клетки (постганглионарного нейрона). Снаружи этой системы находятся шванновские клетки, плотно изолирующие область синапса, прежде всего электрически.

В 1963 г. А. Мартин и Г. Пилар (Martin & Pilar, 1963) обнаружили, что при электрической стимуляции пресинаптической клетки наблюдается двухкомпонентная реакция постсинаптического нейрона: кратковременная первая компонента обусловлена постоянным электрическим током, затекающим в постсинаптическую клетку, а сменяющая ее вторая представляет собой классический возбуждающий постсинаптический потенциал, генерируемый под действием медиатора (см. также подразд. 2.3).

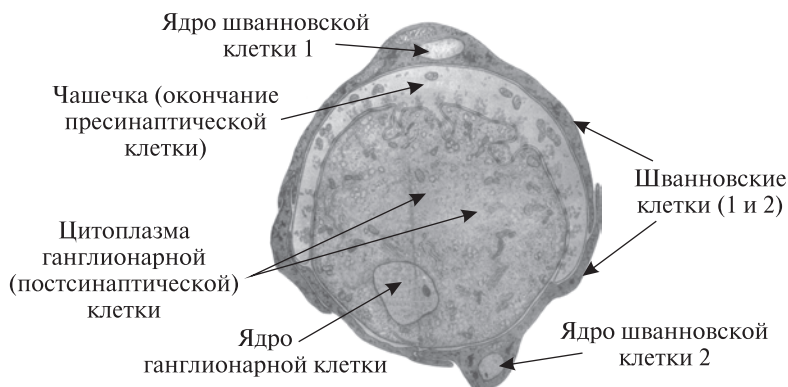


Рис. 71. Чашевидный синапс цилиарного ганглия цыпленка (по De Lorenzo, 1960)

В нормальных условиях примерно для половины исследованных чашевидных синапсов цилиарного ганглия характерна электрическая передача в прямом направлении (ортодромная), а для большинства также и в обратном (антидромная).

Поскольку между клетками цилиарного ганглия существует эффективная химическая передача, более быстрая электрическая передача (в прямом и особенно в обратном направлении) не имеет особого функционального значения. Постганглионарные волокна, отходящие от цилиарного ганглия, иннервируют гладкую мускулатуру глаза, обеспечивающую изменение размера его зрачка и аккомодацию, реакции, в которых выигрыш в несколько миллисекунд вряд ли можно считать значимым.

Изначально такую дополнительную электрическую компоненту рассматривали как побочное следствие большой площади синаптического контакта, компенсирующей высокое электрическое сопротивление плаз-

матических мембран. Детальные электронно-микроскопические наблюдения показали, что одиночное миелинизированное волокно, проходящее в составе глазодвигательного нерва, разветвляется и образует множественные лишенные миелиновой оболочки бутоны. Они контактируют с поверхностью аксонного холмика, ряда коротких дендритов и тела постганглионарного нейрона, формируя гетеросинаптическое соединение. Область контакта непосредственно окружена немиелинизирующими шванновскими клетками, в то время как несинаптические участки тела постганглионарного нейрона покрыты миелиновой оболочкой, а у основания его аксона находится начальный перехват Ранвье. Суммарная площадь постсинаптической мембраны расположенной под аксональными бутонами оценивается в ~ 16 тыс. $\mu\text{м}^2$. Из них на долю участков, обеспечивающих химическую синаптическую передачу, приходится $\sim 9\%$, а на долю электрической — в 50 раз меньше (всего 0,17 %).

Смешанные синапсы хорошо изучены на примере соединений окончаний гигантских миелинизированных бляшек (*large myelinated club endings*, LMCE), представляющих собой отростки слуховых чувствительных нейронов, с маутнеровскими нейронами (М-клетками) мозга рыб (рис. 72).

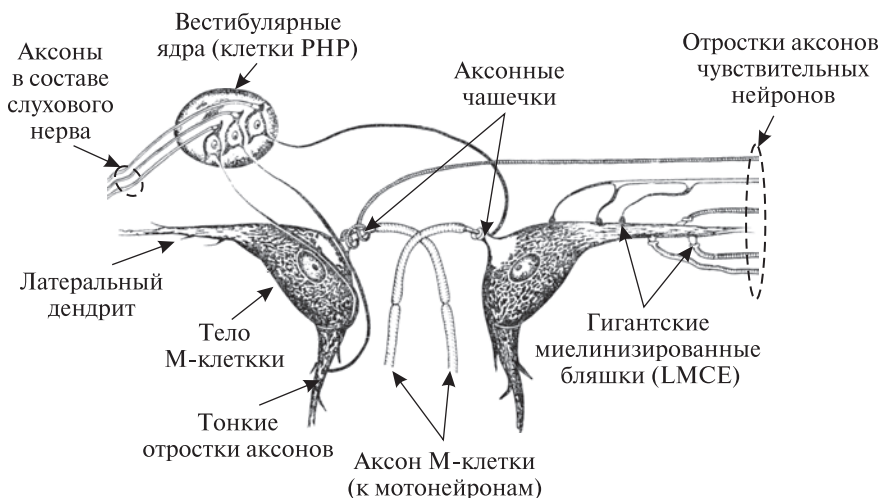


Рис. 72. Упрощенная схема маутнеровских нейронов и связей костных рыб (по Retzlaf, 1954).

Синаптические входы к маутнеровским нейронам (М-клеткам) от разных источников показаны отдельно для левой и правой сторон.

Связи, образованные аксонами М-клеток (с мотонейронами и возвратные терминали), не представлены. Подробное описание характера синаптических связей см. в тексте

Парные связанные реципрокным тормозным синапсом маутнеровские нейроны вовлечены в реализацию рефлекса избегания (бегства), который у костистых рыб выражается в резких ударах хвостом, приводящих к тому, что рыбы быстро уплывают из опасной зоны. Маутнеровские нейроны интегрируют сигналы от органов чувств и посредством гигантских аксонов передают импульсы на противоположную сторону к мотонейронам, иннервирующим мускулатуру хвоста.

В области такого гомосинаптического соединения насчитывается ~60–260 формирующих щелевые контакты кластеров, расположенных между активных зон, включающие глутаматсодержащие синаптические везикулы (светлые, округлые, ~50 нм в диаметре) и находящихся строго напротив рецепторов, «смонтированных» с белками постсинаптической плотности постсинаптической клетки (рис. 73). Всего в таком контакте насчитывается немногим больше 100 тыс. щелевых каналов.

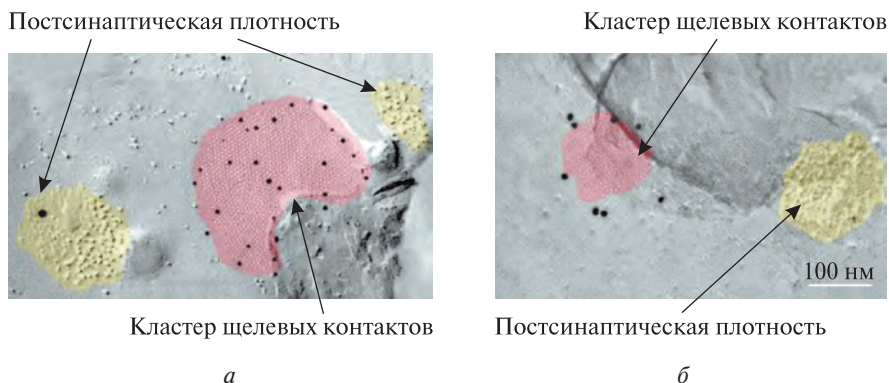


Рис. 73. Смешанные синапсы в нервной системе позвоночных (по Pereda e. a., 2013):

- а* — палочковидные гигантские миелинизированные окончания карася;
- б* — нижнее ядро оливы продолговатого мозга крысы.

Использована техника замораживания-скалывания в сочетании с иммуногистохимическим маркированием белков контакта — темные точки. Для *а* — 10 нм частицы для Sx35 и 18 нм для NR1-субъединицы глутаматного NMDA-рецептора, для *б* — 20 нм частицы для Sx36 и 10 нм для NR1-субъединицы глутаматного NMDA-рецептора

Потенциал действия в пресинаптическом волокне приводит к появлению первой, высокоамплитудной фазы деполяризации М-клетки, сопровождаемой быстрым (<0,5 мс) появлением второй, низкоамплитудной, но более пролонгированной глутаматзависимой фазы. Результатом будет максимально быстрая деполяризация латерального дендрита М-клетки, приводящая к генерации ей потенциала действия и активации соответствующей

ющих мотонейронов, вовлеченных в реализацию реакции бегства. С функциональной точки зрения такие соединения можно классифицировать как возбуждающие синапсы.

Интересно, но щелевые соединения в смешанных синапсах маутнеровских нейронов относятся к гетеротипическим, т. е. их молекулярная организация на участке пресинаптической мембраны отличается от таковой на постсинаптической. Результатом будет формирование хоть и двустороннего электрического синапса, но с выраженными выпрямляющими свойствами. Причем более предпочтительным направлением распространения тока оказывается антидромное — от дендрита М-клетки к аксону сенсорного нейрона с коэффициентом 4 : 1.

В области аксонного холмика и начальных участков дендритов М-клеток широко встречаются тонкие отростки аксонов, содержащих более мелкие (~20—40 нм), уплощенные везикулы, содержащие ГАМК или глицин. Стимуляция образующих их клеток приводит к гиперполяризации маутнеровских нейронов, т. е. такие соединения относятся к тормозным контактам. Однако согласно данным электронной микроскопии частицы типа коннексонов в них отсутствуют. Напомним, что развитие торможения в случае химических синапсов ассоциируется с начальной генерацией нервного импульса в пресинаптическом нейроне, т. е. его возбуждении, а при переходе такой волны деполяризации через каналы щелевого соединения ее знак (полярность) не меняется. Другими словами, в этом случае требуется иной механизм, определяющий разнонаправленные изменения электрических свойств пре- и постсинаптической мембран.

Торможение играет важную роль в реакциях нейронной сети маутнеровских нейронов. Его во многом обеспечивает популяция нейронов пассивного гиперполяризационного потенциала (*passive hyperpolarizing potential (PHP) cells*). В случае одновременного возникновения импульса в левой и правой М-клетке, т. е. итогового одновременного сокращения мышц на обеих сторонах тела, никакого движения хвоста рыб происходить не будет. Из-за того что сигналы от органов чувств практически не бывают симметричными по времени и амплитуде, один нейрон активируется раньше другого. При этом для нормальной реализации реакции бегства очень важно осуществить взаимное тормозное влияние одной маутнеровской клетки на другую (*реципрокное торможение*).

Расположенное на аксонных холмиках маутнеровских нейронов спиральное сплетение тонких волокон (отростков PHP cells, содержащих заполненные глицином синаптические пузырьки) погружено в так называемую *аксонную чашечку* (см. рис. 72). Последняя представляет собой сферическую структуру, состоящую из глиальных и нервных элементов, простирающуюся от аксонного холмика до начала миелиновой оболочки аксона.

Активация тонких нервных волокон вызывает действующий на аксонный холмик деполяризующий ток, приводящий к торможению маутнеровского нейрона. Генерация потенциала действия в нейроне (PHP cell), ипсилате-

рально с М-клеткой, приводит к возникновению внеклеточной позитивной волны тока (внешний гиперполяризующий потенциал, ВГП) с максимальной амплитудой 10–15 мВ и длительностью 1 мс, наблюдаемой как у ипсилатеральной, так и у контрлатеральной маутнеровской клетки. В результате мембрана аксонного холмика гиперполяризуется, что затрудняет развитие нервного импульса (пояснения по данному механизму даны также в подразд. 2.3). Таким образом, не происходит одновременного сокращения симметричных мышц хвоста рыб, что позволяет последним успешно избежать опасности.

Торможение ипсилатеральной М-клетки значимо с точки зрения «отсечения» слабых по амплитуде, случайных и т. п. сигналов. В результате реакция бегства не срабатывает вхолостую.

Внешний гиперполяризующий потенциал имеет большую величину для контрлатеральной, нежели ипсилатеральной клетки, и его развитие повышает порог генерации потенциала действия нейроном. Непосредственно после гиперполяризации маутнеровской клетки под действием внешнего гиперполяризационного потенциала в ней развивается собственная гиперполяризация, обусловленная действием медиатора на рецепторы мембраны аксонного холмика. Начальное кратковременное электрическое тормозное действие благодаря короткому латентному периоду обеспечивает более раннее торможение, которое затем продлевается за счет «нормального» химического постсинаптического потенциала. Фактически такие «смешанные» синапсы тормозного типа представляют собой модификацию, хоть и весьма специфическую, химического контакта, а не соединение, структурно сходное со смешанными синапсами возбуждающего типа.

Смешанные синапсы у позвоночных отмечены и в ЦНС млекопитающих. В спинном мозге крыс ~3–5 % от всех синапсов на теле и проксимальных дендритах вставочных и двигательных нейронов относятся к таким контактам (рис. 74).

Заметим, что термин «смешанный синапс» хоть и используется в научной литературе, но в какой-то мере представляется избыточным с точки зрения классификации синаптических контактов. В случае смешанных синапсов гетеросинаптического типа, когда каждый из пресинаптических бутонов

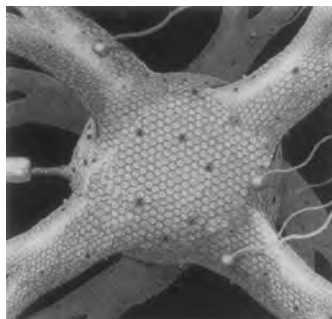


Рис. 74. Схематическое представление синаптических контактов (светлые точки — химические, темные — смешанные) на поверхности тела и проксимальных дендритах «типичного» нейрона спинного мозга (по Rash e. a., 1996)

аксона образует или электрический, или химический контакт, любое из таких соединений — это, по сути, самостоятельный синапс (в узком смысле), что автоматически делает не совсем уместным выделение смешанного типа в качестве отдельного. Даже в случае гомосинаптического соединения участки, содержащие кластеры коннексонов, пространственно разнесены с областью активной зоны контакта, т. е. и здесь формируются фактически самостоятельные электрические и химические контакты (рис. 73, 75). Смешанные синапсы в форме их гомосинаптического соединения представляют собой самый простой, начальный способ взаимодействия химических и электрических синапсов, что в итоге и предопределяет функциональные характеристики нейронной сети.

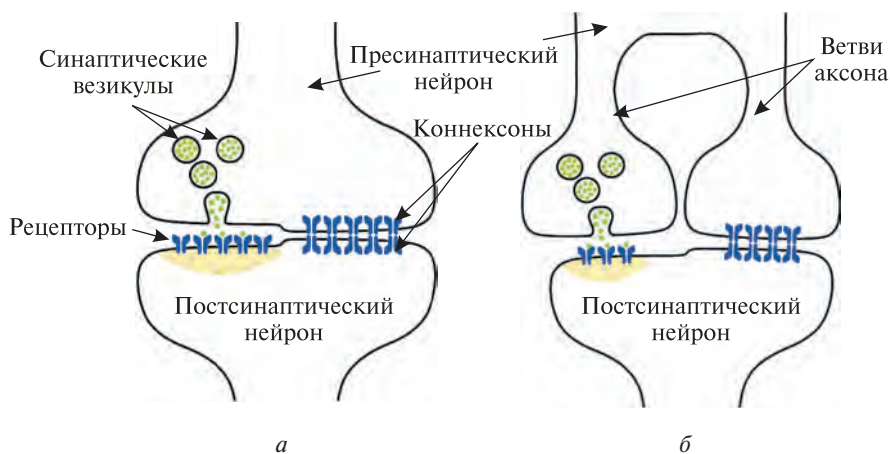


Рис. 75. Взаимодействие между химическим и электрическим типами контакта в синапсах смешанного типа: *а* — гомосинаптическое соединение; *б* — гетеросинаптическое соединение

В завершение подчеркнем, что не существует каких-либо оснований относить электрические синапсы к контактам «второго сорта» («second hand synapses», по меткому выражению Майкла Беннета (M. V. L. Bennett), одного из признанных лидеров в изучении щелевых контактов). С эволюционной точки зрения химическая коммуникация предшествует электрической, встречаясь уже у бактерий. Кажущаяся простота молекулярной организации щелевых соединений, по сравнению со структурой химического синапса, не делает их менее функциональными. Оба эти соединения являются полноправными участниками межклеточных взаимодействий в нервной ткани с весьма сложными механизмами регуляции их эффективности (см. подразд. 4.3).

1.4. РАЗВИТИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

В результате гаструляции у позвоночных образуется зародыш, содержащий под дорсальным участком наружного зародышевого листка (эктодермы) материал хордомезодермы. Взаимодействие этого материала с лежащей над ним эктодермой является одним из наиболее важных во всем развитии. Именно оно побуждает эктодерму к формированию полую нервную трубки, дающей начало головному и спинному мозгу. Действие, посредством которого хордомезодерма инициирует развитие нервной трубки из эктодермы, называется первичной эмбриональной индукцией, а клеточный ответ на индукцию, приводящий к трансформации плоского слоя эктодермальных клеток в полую нервную трубку, — **нейруляцией**. Зародыш, претерпевающий эти изменения, называется **нейрулой**.

Из эктодермы образуются клетки трех типов: 1) клетки нервной трубки; 2) клетки эпидермиса кожи; 3) клетки нервного гребня, мигрирующие из области, которая соединяет нервную трубку с эпидермисом.

1.4.1. НЕЙРУЛЯЦИЯ У ПОЗВОНОЧНЫХ

Процесс нейруляции, изученный на амфибиях и птицах, выявил общую закономерность: изменение высоты клеток нервной пластинки и согласованное изменение их формы. Вследствие изменения высоты клеток нервная пластинка утолщается, а в результате согласованного апикального сужения клеток нейроэпителия пластинка превращается в желобок (рис. 76).

Удлинение клеток эктодермы сопровождается появлением мощных пучков микротрубочек, ориентированных по длинной оси клеток. В апикальных частях столбчатых клеток нейроэпителия располагаются микрофиламенты, кооперативное сокращение которых вызывает «кисетный эффект», ведущий к изгибанию пластинки.

Механизмы образования нервной трубки у амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих, по-видимому, сходны. Первым указанием на то, что данный участок эктодермы предназначен стать нервной тканью, являет-

ся изменение формы клеток. Эктодермальные клетки, расположенные в центре дорсальной области, становятся удлинёнными, тогда как клетки, предназначенные для образования эпидермиса, уплощаются (рис. 77).

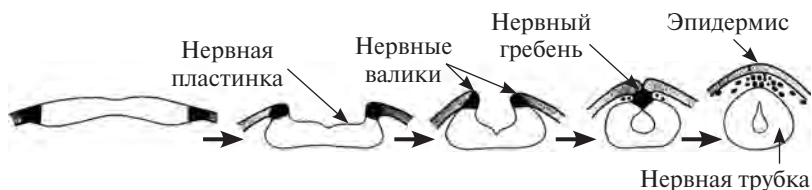


Рис. 76. Схема образования нервной трубки у амфибий и амниот (по Balinsky, 1975).

Клетки — предшественники нервного гребня обозначены черным цветом, клетки — предшественники нервной трубки — белым, клетки — предшественники эпидермиса — серым



Рис. 77. Организация клеток эктодермы (по Burnside, 1971):

а — ориентация микротрубочек и микрофиламентов в клетках нервной пластинки;
б — изменение формы эктодермальных клеток в ходе гастрюляции и нейруляции у зародыша тритона

Удлинение дорсальных эктодермальных клеток приводит к тому, что они приподнимаются над окружающей их эктодермой, образуя нервную пластинку. Она занимает не менее 50 % площади всей эктодермы. Вскоре после образования нервной пластинки ее края утолщаются и движутся вверх, образуя нервные валики, а в центре нервной пластинки возникает U-образный нервный желобок, разделяющий зародыш на будущую правую и левую половины. Нервные валики, приподнимаясь, движутся навстречу друг другу и в конечном счете сливаются по средне-спинной линии зародыша. В результате нервная пластинка превращается в лежащую под эктодермальным эпителием нервную трубку. Клетки в области, соединяющей

этот эпителий с нервной трубкой, являются клетками нервного гребня. Позднее эти клетки мигрируют по всему зародышу, давая начало многочисленным клеточным популяциям (см. далее).

Формирование нервной трубки происходит не одновременно во всей эктодерме. Оно выражено у птиц и млекопитающих, зародыш которых удлинняется по продольной оси до начала нейруляции. Если в головной области нейруляция продвинулась уже далеко, то в хвостовом отделе все еще продолжается гастрюляция (рис. 78).

У млекопитающих самый задний участок нервной трубки формируется путем образования в нем полости (кавитационный путь). Таким же образом, т. е. в виде плотного тяжа, погружающегося затем в глубь зародыша и формирующего внутри полость, происходит закладка нервной трубки у костистых рыб и костных ганоидов.

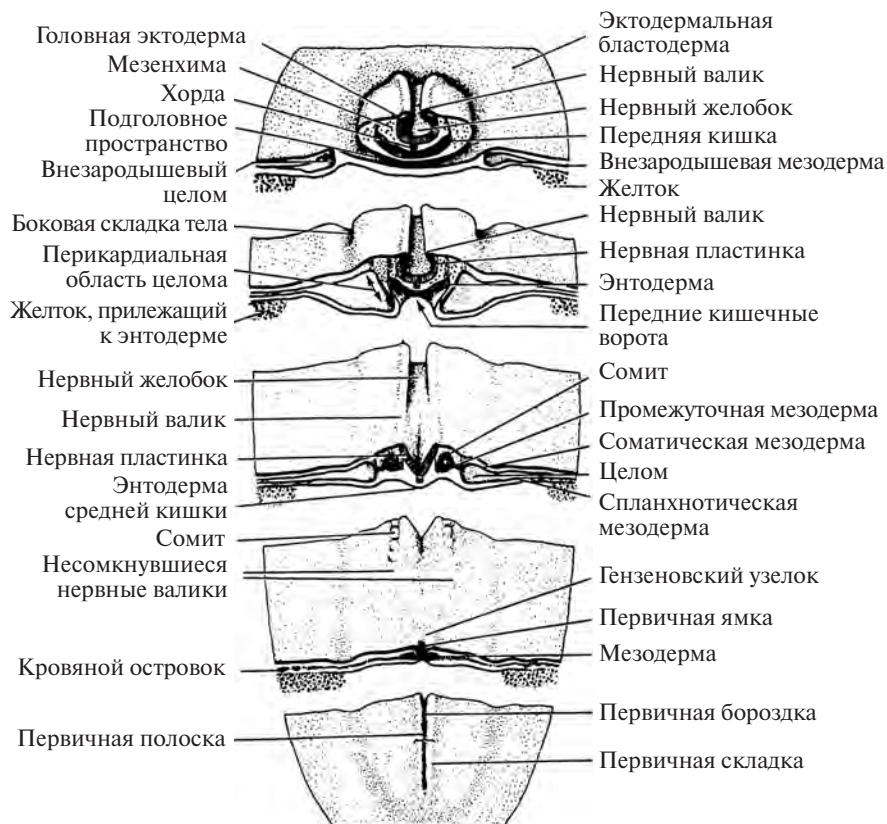


Рис. 78. Нейруляция у зародыша курицы, 24 ч инкубации (по Huebner, 1949)

Регионализация нервной трубки является также результатом изменений ее формы. В головном конце, где будет формироваться головной мозг, стенка трубки широкая и толстая. В ней рядом вздутий и сужений обозначены различные отделы головного мозга. Однако каудальнее головного отдела она сохраняет вид простой, суживающейся по направлению к хвосту трубки. Два открытых конца нервной трубки называются соответственно передним и задним нейропором. У млекопитающих амниотическая жидкость в течение некоторого времени протекает через нервную трубку, входя и выходя из этих отверстий (рис. 79).

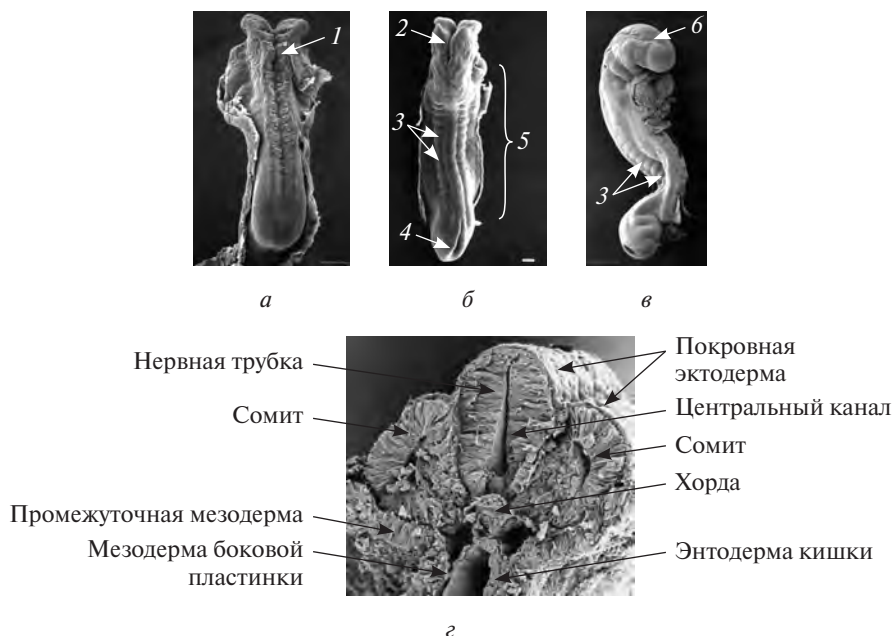


Рис. 79. Нейруляция у зародыша человека, 4-я неделя развития (по Hill, 2011):

- a* – 23 дня, 12 пар сомитов (вид с дорсальной стороны); *б* – 24 дня, 13 пар сомитов (вид с дорсальной стороны); *в* – 26 дней, 21 пара сомитов (вид с боковой стороны); *г* – 25 дней, 19 сомитов (поперечный разрез);
 1 – смыкающиеся нервные валики; 2 – передний нейропор (незамкнувшийся);
 3 – сомиты; 4 – задний нейропор (незамкнувшийся);
 5 – замыкающаяся нервная трубка; 6 – замкнувшийся передний нейропор

Если к 27 дню беременности у человека задний нейропор еще остается открытым, то возникает *spina bifida* – нарушение развития, тяжесть которого зависит от того, насколько большой участок нервной трубки остается открытым. Несмыкание переднего нейропора приводит к анэнцефалии, исход которой летален, так как сохраняющийся контакт переднего мозга с амниотической жидкостью

вызывает его дегенерацию. Развитие переднего мозга плода прекращается, и свод черепа не формируется. Такая аномалия развития встречается примерно в 0,1 % случаев всех беременностей. В настоящее время дефекты развития нервной трубки могут быть диагностированы на ранних сроках беременности.

1.4.2. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА НЕРВНОЙ ТРУБКИ НА АНАТОМИЧЕСКОМ УРОВНЕ

Разные участки нервной трубки дифференцируются в разные отделы центральной нервной системы одновременно тремя различными путями. На анатомическом уровне в нервной трубке возникают расширения и сужения, а ее полости образуют камеры головного и спинного мозга. На гистологическом (тканевом) уровне клеточные популяции в стенке нервной трубки перераспределяются разными способами, формируя различные функциональные отделы головного и спинного мозга. На цитологическом (клеточном) уровне клетки нейрального эпителия дифференцируются с образованием многочисленных типов нейронов и глии.

У раннего зародыша млекопитающих нервная трубка на всем ее протяжении прямая. Однако раньше чем сформируется задний участок трубки, самая передняя ее часть претерпевает чрезвычайно резкие изменения. Она раздувается, подразделяясь на три первичных мозговых пузыря: передний (*prosencephalon*), средний (*mesencephalon*), задний (*rhombencephalon*). К тому времени, когда замкнется задний конец нервной трубки, по бокам развивающегося переднего мозга образуются вторичные расширения — глазные пузыри. Кроме того, будущий головной мозг изгибается таким образом, что места изгиба отмечают границы полостей мозга. Два основных изгиба называются головным и затылочным (шейным). В последующем передний и задний мозговые пузыри делятся еще на два пузыря каждый (рис. 80).

Первичный передний мозг затем подразделяется на конечный мозг и расположенный каудальнее его промежуточный мозг. Конечный мозг впоследствии формирует большие полушария головного мозга, а его полость преобразуется в первый и второй (боковые) мозговые желудочки. Промежуточный — таламическую, включающую в себя таламус, мета- и эпителиамус, а также гипоталамическую области, его полость становится третьим желудочком мозга. *Средний мозг* на отделы не подразделяется, он дает начало ножкам мозга и пластинке четверохолмия, а его полость трансформируется в узкий канал — водопровод среднего мозга (Сильвиев водопровод). *Первичный задний мозг* подразделяется на будущий продолговатый мозг и лежащий спереди от него задний мозг. Отростки нейронов из состава ядер продолговатого мозга формируют нервы, регулирующие деятельность висцеральных органов (дыхательной, пищеварительной и сердечно-сосудистой систем). Задний мозг также формирует мозжечок — отдел мозга, ответственный за координацию движений, поддержание позы и чувство равновесия.

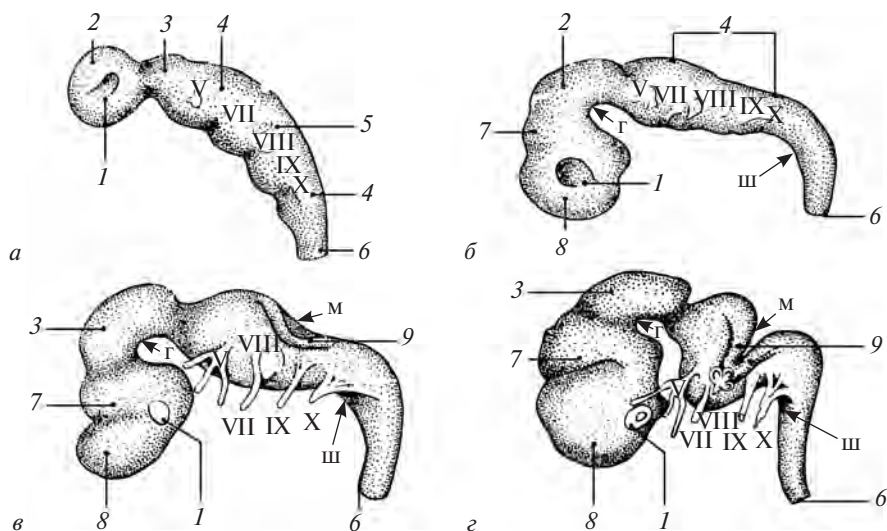


Рис. 80. Развитие головного мозга человека (по Шаде и Форду, 1976):

а–г – последовательные стадии (с 3-й по 7-ю неделю развития).

Изгибы мозга: г – головной; ш – шейный; м – мостовой.

Римские цифры – места отхождения черепных нервов.

I – глазной пузырь (глаз); 2 – передний мозг; 3 – средний мозг;

4 – задний мозг; 5 – слуховой пузырек; 6 – спинной мозг;

7 – промежуточный мозг; 8 – конечный мозг; 9 – ромбическая губа

У человека (рис. 81) нервный желобок намечается на 3-й неделе эмбриогенеза, в конце 4-й недели нервная трубка уже замкнута, а на ее переднем конце образуется три первичных мозговых пузыря. В возрасте 5 недель сформированы пять мозговых пузырей, намечаются полушария головного мозга, 6 недель – образуются первичные изгибы нервной трубки и намечаются мозговые оболочки, 7 недель – полушария достигают большого размера, выражены полосатое тело и таламусы, появляются сосудистые сплетения, 8 недель – в коре мозга обнаруживаются типичные нейроны, заметны обонятельные доли, отчетливо выражены все оболочки мозга (твердая, паутинная, мягкая). У 10-недельного плода формируется дефинитивная внутренняя структура спинного мозга, у 12-недельного – общие структурные черты головного мозга, появляются шейное и поясничное утолщения спинного мозга, начинается дифференцировка нейроглии, у 16-недельного – полушария покрывают большую часть ствола, становятся различимыми доли конечного мозга, появляются бугорки четверохолмия. В период с 20-й по 40-ю неделю завершается формирование комиссур мозга (20-я неделя), начинается миелинизация спинного мозга (20-я неделя), появляются типичные слои коры головного мозга (25-я неделя), формируются борозды и извилины головного мозга (28–30-я недели), начинается миелинизация головного мозга (36–40-я недели).

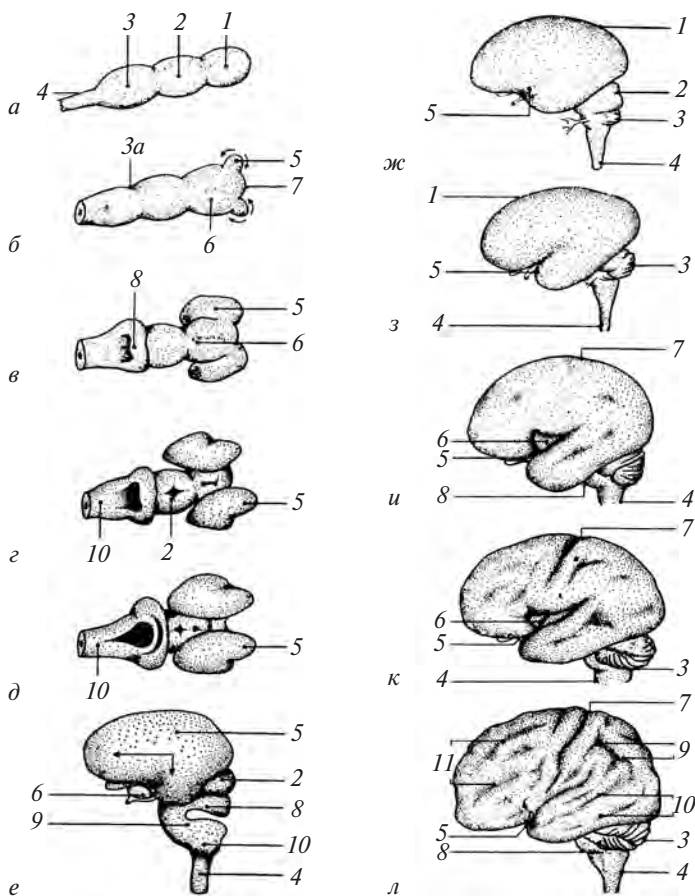


Рис. 81. Развитие головного мозга человека (а–е)

и его больших полушарий (жс–л) (по Шаде и Форду, 1976):

а – до 4-й недели; б, в – конец 4-й недели; г – 6-я неделя;
 д – 8–9-я недели; е – к 14-й неделе; жс – 11-я неделя; з – 16–17-я недели;
 и – 24–26-я недели; к – 32–34-я недели; л – новорожденный.

Для частей а–е: 1 – передний мозговой пузырь;

2 – средний мозговой пузырь; 3 – задний мозговой пузырь;

3а – перешеек ромбовидного мозга; 4 – спинной мозг;

5 – конечный мозг; 6 – промежуточный мозг; 7 – конечная пластинка;

8 – мозжечок; 9 – мост; 10 – продолговатый мозг.

Для частей жс – л: 1 – конечный мозг; 2 – средний мозг;

3 – мозжечок; 4 – продолговатый мозг; 5 – боковая щель;

6 – островок; 7 – центральная борозда; 8 – мост;

9 – борозды теменной области; 10 – борозды затылочной области;

11 – борозды лобной области

Процесс образования мозговых пузырей у раннего зародыша характеризуется чрезвычайно высокой скоростью и, кроме того, тем, что эти огромные вздутия образуются в основном за счет увеличения размеров полостей, а не за счет утолщения их стенок. Быстрое увеличение размеров вызвано давлением на стенки нервной трубки заключенной в ней жидкостью. Давление этой жидкости должно было бы уменьшиться в результате ее проникновения в полость спинного мозга. Однако этого не происходит, так как в нервной трубке до места замыкания заднего нейропора возникает сужение, отделяющее будущий головной мозг от спинного. Если искусственно понижать давление спинномозговой жидкости в перегороденной передней части нервной трубки, то скорость увеличения объема головного мозга значительно снижается и он будет содержать гораздо меньше клеток, чем головной мозг интактных зародышей. В норме после первоначального быстрого увеличения объемов желудочков головного мозга перегороденный участок нервной трубки снова открывается.

1.4.3. ДИФФЕРЕНЦИРОВКА НЕРВНОЙ ТРУБКИ НА ТКАНЕВОМ И КЛЕТОЧНОМ УРОВНЯХ

Исходно нервная трубка образована слоем герминативного нейрального эпителия толщиной в одну клетку. Этот слой представляет быстро делящуюся клеточную популяцию. Каждая клетка простирается от края, обращенного к просвету нервной трубки, до ее наружного края. Однако ядра клеток находятся на разных уровнях, и поэтому создается впечатление, что стенка нервной трубки многослойна. Такое положение ядер зависит от стадии клеточного цикла. Синтез ДНК происходит тогда, когда ядро клетки располагается у ее наружного конца. По мере приближения к митотической фазе оно мигрирует по направлению к просвету трубки. Митоз осуществляется вблизи того конца клетки, который обращен к просвету нервной трубки. В период раннего развития 100 % клеток нервной трубки включают радиоактивный тимидин в ДНК. Однако вскоре некоторые клетки перестают включать предшественники ДНК, показывая тем самым, что они более не участвуют в синтезе ДНК и в митозе. Эти клетки представляют собой молодые *нейроны*, или *глиальные* (опорные) *клетки*. Они мигрируют к периферии нервной трубки, где происходит их дальнейшая дифференцировка. Она зависит от положения, которое займут эти нейробласты, оказавшись вне области делящихся клеток.

В то время как клетки, лежащие у просвета нервной трубки продолжают делиться, мигрирующие клетки образуют второй слой вокруг исходного — плащевой слой. Этот второй слой постепенно утолщается по мере добавления к нему клеток герминативного нейрального эпителия. Сам герми-

нативный слой теперь называют эпендимным. Дифференцировка клеток плащевого слоя приводит к образованию как нейронов, так и глиальных клеток. Нейроны устанавливают между собой связи и посылают в направлении от просвета трубки аксоны, образуя вблизи него бедный клетками краевой слой. В конце концов глиальные клетки заключают аксоны этого слоя в миелиновые футляры, придающие им беловатую окраску. Поэтому плащевой слой, содержащий тела нейронов, часто называют *серым веществом*, а содержащий их аксоны краевой слой — *белым веществом* (рис. 82, а).

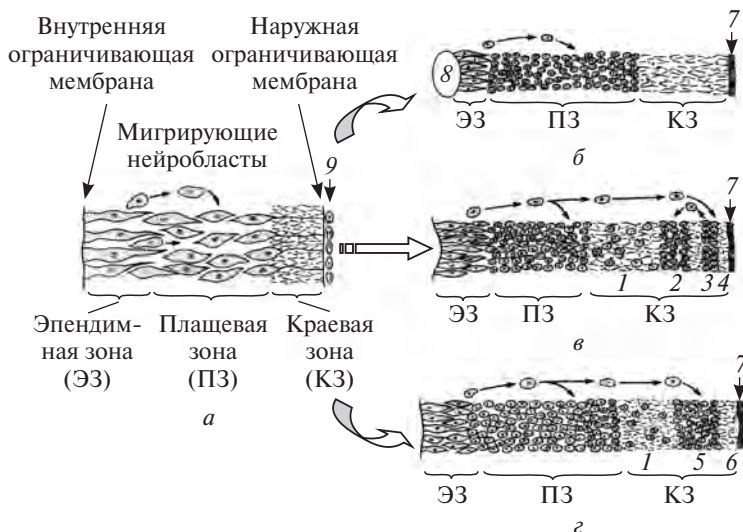


Рис. 82. Схема дифференцировки стенки нервной трубки (по Crelin, 1974):

а — нервная трубка 5-недельного зародыша; б — срез спинного мозга

3-месячного плода; в — срез мозжечка 3-месячного плода;

г — срез конечного мозга 3-месячного плода;

1 — будущее белое вещество; 2 — слой клеток зерен и клеток Гольджи;

3 — слой клеток Пуркинье; 4 — молекулярный слой; 5 — примордиальный кортекс;

6 — молекулярный слой; 7 — мягкая мозговая оболочка;

8 — центральный канал; 9 — клетка мягкой мозговой оболочки

В спинном и продолговатом мозге основная трехкомпонентная структура (эпендимный, плащевой, краевой слои) сохраняется в течение всего развития (рис. 82, б). Серое вещество принимает форму бабочки, окруженной белым веществом, и оба они заключены в соединительнотканый чехол. По мере дифференцировки нервной трубки в ней образуется продольная борозда, делящая ее на дорсальную и вентральную половины. Дорсальная получает информацию от чувствительных нейронов, вентральная участвует в осуществлении различных двигательных функций.

Трехзонная структура мозга претерпевает изменения в мозжечке и в полушариях головного мозга. В глубоких слоях мозжечка вблизи просвета трубки из нейробластов формируются скопления нейронов, называемые ядрами. Каждое ядро работает как функциональная единица, связывающая наружные части мозжечка с другими частями мозга. Другие нейробласты серого вещества мигрируют по наружной поверхности развивающегося мозжечка, образуя новый герминативный слой вблизи наружной границы нервной трубки. Нейробласты, происходящие из клеток этого слоя, мигрируют обратно в развивающееся белое вещество мозжечка, в котором формируют зернистый слой (клетки Гольджи). Из исходного эпендимного слоя возникают разнообразные нейроны и глиальные клетки, включая отличающиеся от других нейронов крупные клетки Пуркинье (рис. 82, в).

Каждый нейрон Пуркинье имеет огромный дендритный аппарат (типичная клетка может образовывать до 100 тыс. синапсов с другими нейронами). Это единственные эфферентные нейроны коры мозжечка. Дефекты клеток Пуркинье приводят к нарушению походки, чувства равновесия, затруднению движения.

В полушариях конечного мозга некоторые нейробласты из плащевого слоя мигрируют через белое вещество и образуют вторую зону нейронов, называемую *новой корой* (неокортекс). Эта новая кора мозга затем подразделяется на шесть слоев, содержащих тела нейронов. Дифференцировка этих слоев продолжается после рождения ребенка в течение первой половины детства.

В головном мозге человека содержится приблизительно 86 млрд нейронов, связанных с таким же числом глиальных клеток. Клетки, остающиеся неотъемлемыми компонентами выстилки нервной трубки, становятся *эпендимными клетками*. Из них могут образовываться как предшественники нейронов, так и глиальные клетки. Полагают, что дифференцировка этих клеток-предшественников в значительной степени детерминирована окружением, в которое они попадают. Типы нейронов и глиальных клеток чрезвычайно разнообразны. У некоторых нейронов образуется лишь небольшое число цитоплазматических участков, служащих для восприятия электрических импульсов (дендритов), тогда как другие нейроны формируют обширные области, доступные для этой цели. В среднем 1 нейрон соединяется с 10 тыс. других нервных клеток, что позволяет коре функционировать как центру обучения, мышления, памяти.

Нейроны коры головного мозга новорожденного имеют очень мало дендритов. Поэтому одним из самых важных событий первого года жизни является увеличение числа таких участков в этих клетках.

Формирующиеся аксоны представляют собой длинные выросты тела нейрона. Они растут за счет конуса роста, имеющегося на конце аксона. Если дендриты чаще всего многочисленны и не распространяются далеко от тела нервной клетки, то аксоны простираются на довольно большое расстояние. Аксон представляет собой непрерывное продолжение нервной клетки. Движение конуса роста осуществляется посредством удлинения и сокращения заостренных филоподий, называемых *микрошипами* (рис. 83, а).

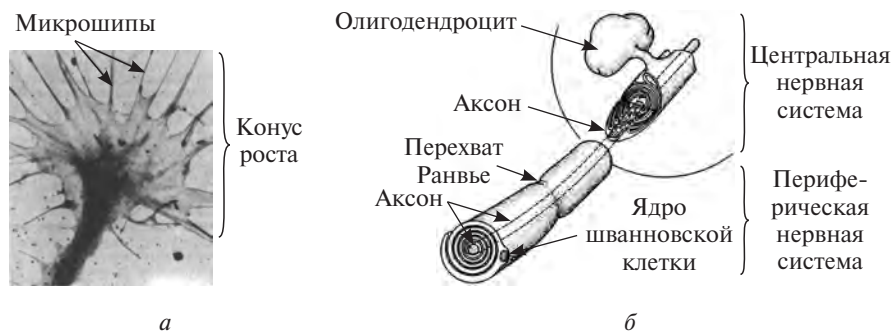


Рис. 83. Конус роста аксона (а) и схема образования миелиновой оболочки (б) (по Гилберту, 1993)

Филоподии содержат микрофиламенты, ориентированные параллельно длинной оси аксона. Они принимают участие в сократительной активности клеток и обеспечивают процессы миграции клеток некоторых типов. Прочность структуры аксона обеспечивается микротрубочками. Сократительный аппарат в филоподиях аксона выполняет, по-видимому, только исследовательскую роль — отыскивает субстрат, прикрепляется к нему и тянет за собой остальную часть клетки, а удлинение аксона осуществляется при помощи перетекающей по нему цитоплазмы.

Нейроны, как известно, передают электрические импульсы. Для облегчения проведения электрического сигнала аксон на всем своем протяжении изолируется от других аксонов нерва отростками расположенных через определенные промежутки глиальных клеток — **олигодендроцитов** (в центральной нервной системе), или **шванновских клеток** (в периферической нервной системе). Они обертывают собой развивающийся аксон и продуцируют специализированную клеточную оболочку, богатую миелином (миелиновая оболочка), окружающую в виде спирали лежащий в ее центре аксон (рис. 83, б).

Демиелинизация нервных волокон связана с некоторыми серьезными нарушениями умственной деятельности (например, рассеянный склероз) и иногда приводит к летальному исходу.

Аксон также специализирован для секреции нейромедиаторов, т. е. способен вырабатывать специфические ферменты для их синтеза и разрушения, что означает не только структурную, но и молекулярную дифференцировку данной части клетки.

Фактически у ребенка после его рождения мозг продолжает развиваться с такой же скоростью, как и в плодный период. По мнению ряда ученых, у человека по сравнению с другими приматами очень короткий период беременности. Согласно некоторым оценкам он должен был составлять 21 месяц. Другими словами, согласно этой точке зрения люди в течение первого года жизни являются, в сущности, внematочными плодами. Однако голова 21-месячного младенца была бы не в состоянии пройти через родовые пути женщин, т. е. роды должны состояться именно в то время, когда голова у младенца еще достаточно мала. Поэтому человеческие детеныши рождаются в конце 9-го, а не 21-го месяца. Нервная система родившегося 9-месячного ребенка получает существенный выигрыш от воздействия на нее столь сильной стимуляции (влияние окружающего мира) в течение первого года жизни.

1.4.4. РАЗВИТИЕ ОРГАНОВ ЗРЕНИЯ И СЛУХА

Образование глаза начинается в стенке промежуточного мозга. На 22-й день развития в стенке нервной трубки человека образуются боковые выпячивания, преобразующиеся затем в промежуточный мозг. Дифференциальный рост этих выступов приводит к формированию *глазных пузырей*, связанных с промежуточным мозгом *глазными стебельками*.

Контактируя с эктодермальным покровным эпителием зародыша, глазные пузыри индуцируют образование в нем *хрусталиковых плакод*. В свою очередь, хрусталиковая плакода вызывает изменения в глазном пузыре. Его передняя стенка инвагинирует, а сам пузырь превращается в двустенную глазную чашу (рис. 84).

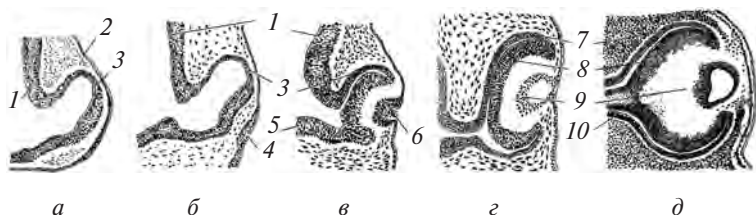


Рис. 84. Развитие глаза (по Mann, 1964):

а–д – последовательные стадии процесса;

1 – стенка переднего мозга; 2 – эктодермальный эпителий;

3 – глазной пузырь; 4 – хрусталиковая плакода; 5 – глазной стебелек;

6 – хрусталиковый пузырек; 7 – пигментный слой; 8 – нейральный слой;

9 – хрусталик; 10 – зрительный нерв

По мере инвагинации глазной стебелек сужается, а два слоя глазной чаши начинают дифференцироваться в разных направлениях. Клетки наружного слоя продуцируют пигмент, формируя со временем пигментный слой сетчатки. Клетки внутреннего слоя дают начало множеству фоторецепторных и промежуточных нейронов, глиальных и ганглиозных клеток, формирующих нейронную сетчатку. После того как аксоны ганглиозных клеток прорастают по глазному стебельку, он начинает именоваться зрительным нервом.

В ходе дальнейшей дифференцировки нейронной сетчатки разные нейроны группируются в три слоя: фоторецепторных (свето- и цветовосприимчивых) клеток, биполярных промежуточных нейронов, ответственных за передачу электрического сигнала от фоторецепторов к слою ганглиозных клеток. Совокупность глиальных клеток поддерживает целостность сетчатки, а амакриновые и горизонтальные нейроны обеспечивают передачу электрических сигналов в горизонтальном направлении. Образование слоев сетчатки обусловлено делением клеток герминативного слоя, их миграцией и дифференциальной гибелью. При этом любая единичная клетка — предшественник нейробласта дает начало по меньшей мере трем типам нейронов или двум типам нейронов и одному типу глиальных клеток. Последними завершают свою дифференцировку фоторецепторные клетки.

В ходе образования дефинитивного хрусталика хрусталиковая плакода окружается и вступает в контакт с образованным над ней покровным эпителием, индуцируя в нем формирование прозрачной роговицы. При этом поддерживаемое на заданном уровне внутриглазное давление обеспечивает требуемую кривизну роговицы, что необходимо для правильной фокусировки света на сетчатке. Хрусталик дифференцируется в прозрачное тело посредством изменения структуры и формы его клеток, а также синтеза в них специфических белков (кристаллинов). Клетки внутреннего, обращенного к сетчатке слоя вытягиваются и превращаются в первичные хрусталиковые волокна, в то время как клетки переднего (внешнего) слоя сохраняют высокую пролиферативную активность, являясь источником новых (вторичных) хрусталиковых волокон на протяжении всей жизни. Растущие хрусталиковые волокна удлиняются и по мере заполнения их кристаллинами утрачивают ядро, а затем и вовсе отмирают. При этом остатки этих клеток выталкиваются в центр хрусталика, где формируется прозрачное хрусталиковое ядро. У взрослой курицы процесс дифференцировки эпителиальной клетки в хрусталиковое волокно занимает два года. Лежащая перед хрусталиком радужка содержит мышцы, контролирующие размер зрачка, образующиеся из эктодермального слоя (области нейронной сетчатки, которая не содержит фоторецепторов) и мезенхимы.

В формировании глаза участвуют клетки эмбриональной мезенхимы, берущие начало как от мезодермы, так и от клеток нервного гребня (преимущественно). Они образуют сосудистую оболочку глаза, а также внешнюю оболочку глазного яблока (склеру).

Орган слуха и равновесия также имеет смешанное происхождение. В его образовании принимают участие покровная эктодерма и мезенхима головы. Внутреннее ухо формируется из эктодермы. Его развитие начинается с индуцированного продолговатым мозгом образования парных утолщений покровной эктодермы на уровне заднего мозга — слуховых плакод (у человека это происходит около 3-й недели развития). Последующее их впячивание и почти полное отшнуровывание приводит к формированию слуховых пузырьков, некоторое время связанных с внешней средой эндолимфатическим каналом. В дальнейшем эндолимфатический канал замыкается, а слуховой пузырек подразделяется на верхний и нижний отделы, отделенные друг от друга слабым перехватом. В верхнем отделе образуются три полукруглых утолщения, первоначально расположенных в вертикальной плоскости, а затем занимающих три взаимно перпендикулярных положения. Прорываясь посередине, они превращаются в полукружные каналы (орган равновесия). В нижнем отделе появляется мешковидное вздутие со слепым выростом на конце. Удлиняясь и закручиваясь, он превращается в канал улитки, внутри которого образуется кортиев орган (орган слуха) (рис. 85).

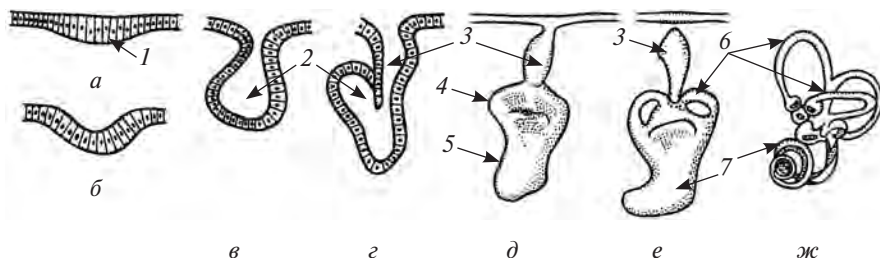


Рис. 85. Схема развития органа слуха и равновесия
(по Шмальгаузену, 1938):

а–ж — последовательные стадии процесса;

1 — слуховая плакода; *2* — слуховой пузырек; *3* — эндолимфатический канал;
4 — верхний отдел слухового пузыря; *5* — нижний отдел слухового пузыря;
6 — полукружные каналы; *7* — улитка (кортиев орган)

Под воздействием слухового пузырька из окружающей мезенхимы формируется хрящевая слуховая капсула, в точности повторяющая сложную форму внутреннего уха. В результате стенка внутреннего уха образует перепончатый, а слуховая капсула костный лабиринт. Наружное и среднее (барабанная полость и слуховая труба) ухо развиваются из первого жаберного и первого глоточного кармана и боковой части верхней стенки глотки, соответственно. Слуховые косточки образуются из хряща первой (молоточек и наковальня) и второй (стремечко) жаберных дуг.

Орган обоняния развивается из обонятельных плакод, представляющих собой парные утолщения эктодермы в передней части головы. В результате разрастания содержащегося в них обонятельного эпителия они превращаются в обонятельные мешки, открывающиеся наружу обонятельными ямками.

1.4.5. НЕРВНЫЙ ГРЕБЕНЬ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫЕ

Нервный гребень происходит из эктодермы, но его значение для развития зародыша столь велико, что иногда нервный гребень называют четвертым зародышевым листком. Клетки нервного гребня активно мигрируют на большие расстояния и являются родоначальниками большого числа типов клеток, включая (рис. 86):

- нейроны и вспомогательные глиальные клетки сенсорной, симпатической и парасимпатической нервной системы;
- синтезирующие адреналин хромаффинные клетки надпочечников;
- содержащие пигмент клетки эпидермиса;
- скелетные и соединительнотканые компоненты головы.

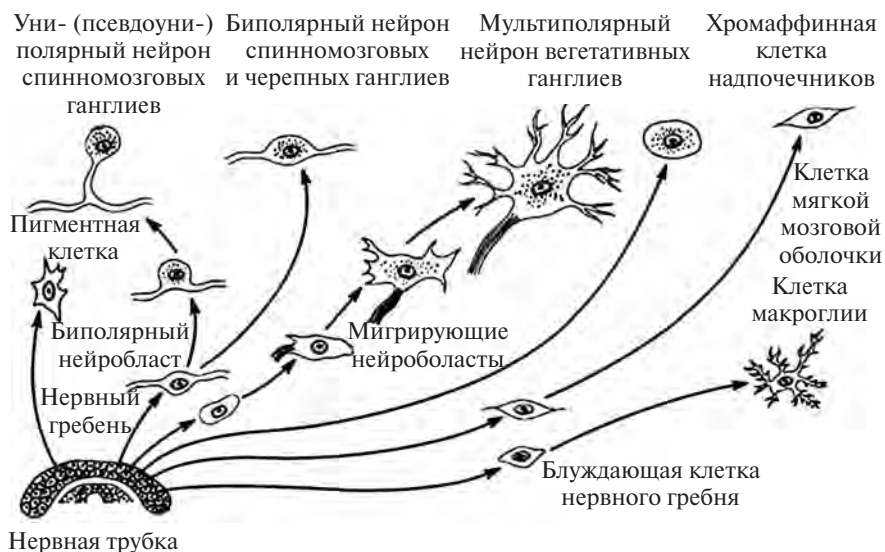


Рис. 86. Клетки нервной системы – производные нервного гребня (по Crelin, 1974)

Судьба клеток нервного гребня зависит от того, куда они мигрируют и где поселяются. Нервный гребень – временная структура, клетки которой распространяются по телу вскоре после смыкания нервной трубки. Используя флуоресцирующие антитела к клеткам нервного гребня, установили три главных пути их миграции (рис. 87).

Первый путь простирается в вентральном направлении через передний отдел сомита (в задний отдел сомита клетки нервного гребня вступать не могут).

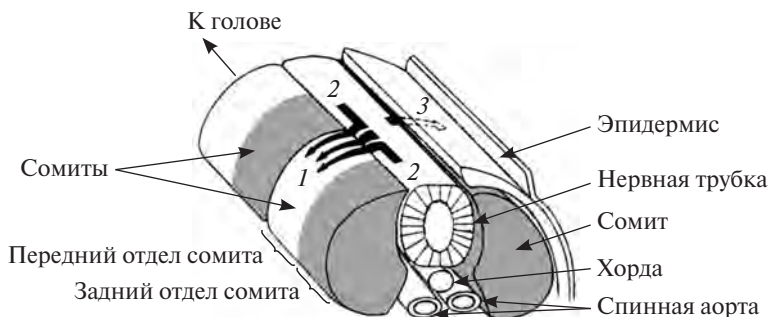


Рис. 87. Пути миграции клеток
нервного гребня (по Гилберту, 1993):
1 — первый путь; 2 — второй путь; 3 — третий путь

Некоторые из этих клеток достигают спинной аорты, где из них формируются симпатические ганглии. Другие клетки, попадающие в краниальные и шейные области зародыша, дают начало парасимпатическому отделу периферической нервной системы. В особых областях тела клетки нервного гребня, мигрировавшие этим же путем, образуют скопления секретирующих хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников.

Второй путь перемещения расположенных вблизи заднего отдела сомита клеток нервного гребня — вдоль нервной трубки вперед или назад. Затем они вступают в передние отделы своих собственных или прилежащих к ним сомитов. Здесь они объединяются с некоторыми из клеток нервного гребня, изначально расположенных напротив переднего отдела сомита, и формируют ганглии дорсальных корешков спинного мозга.

Третий путь миграции клеток нервного гребня проходит в дорсолатеральном направлении под покровным эпителием зародыша. Некоторые из этих клеток дифференцируются в пигментные клетки (у млекопитающих — меланоциты). Они движутся из центральной дорсальной области по вентральной поверхности покровного эпителия, достигая кожи живота.

У мутантов мышей с нарушениями процесса миграции клеток нервного гребня (мутация *White*) на вентральной стороне образуется белое пятно, свидетельствующее о том, что пигментные клетки не достигли этой области.

Клетки нервного гребня мигрируют не случайно, а следуя строго определенным путям. Узнают они этот путь потому, что он маркирован белком *фибронектином*. Клетки нервного гребня обнаруживают также сродство к ламинину, еще одному белку, секретируемому клетками зародыша. Концентрация и локализация этих молекул неодинакова: они сконцентрированы в переднем отделе сомита, по которому мигрируют клетки нервного гребня, и отсутствуют в заднем, где они не мигрируют. В детерминации

миграционных путей клеток нервного гребня большую роль играет гиалуроновая кислота, вызывающая образование свободного от клеток пространства, в которое затем внедряются клетки нервного гребня.

Мультипотентность клеток нервного гребня. Единичная клетка нервного гребня может дать начало разным клеточным типам в зависимости от места ее будущей локализации. В частности, при реципрокной пересадке шейного, содержащего холинергические нейроны парасимпатических ганглиев, и грудного, содержащего норадренергические нейроны симпатических ганглиев, отделов нервного гребня клетки бывшего грудного отдела дают начало холинергическим, а бывшего шейного — адренергическим нейронам вегетативных ганглиев. Следовательно, клетки шейного и грудного отделов нервного гребня до начала их миграции содержат ферменты, необходимые для синтеза как ацетилхолина, так и норадреналина. Клетки, мигрирующие в область, предназначенную стать хромаффинной тканью, могут дифференцироваться в двух направлениях. В присутствии фактора роста нервов они превращаются в симпатические нейроны, но будучи подвергнутыми действию глюкокортикоидов (продуцируемых клетками коры надпочечников), дифференцируются в хромаффинные клетки мозгового вещества надпочечников.

Благодаря отличительным особенностям клетки нервного гребня служат модельной системой для изучения процессов клеточной миграции и дифференцировки.

1.4.6. ЭМБРИОНАЛЬНАЯ ИНДУКЦИЯ

В период гаструляции резко меняются потенции клеток. Так, клетки ранней гаструлы еще не детерминированы, хотя на стадии поздней гаструлы судьба их уже предопределена. Пересадка клеток презумптивного эпидермиса в область будущей нервной пластинки и наоборот, проведенная на стадии ранней гаструлы, показала, что такие трансплантаты развиваются так же, как и их окружение. Другими словами, речь идет о зависимом развитии этих клеток, так как их судьба определяется локализацией в зародыше. В случае выполнения трансплантации на стадии поздней гаструлы вновь пересаженные участки обнаруживали независимое (автономное) развитие. При этом пересаженные клетки эпидермиса давали начало кожному покрову, а пересаженные клетки нервной пластинки формировали вторичную нервную пластинку (рис. 88). Под детерминацией, таким образом, подразумевается предназначение клеток к дифференцировке в специфический клеточный тип.

Ход нейруляции у амфибий, как уже отмечалось ранее, сходен с таковым для высших позвоночных (рис. 89).

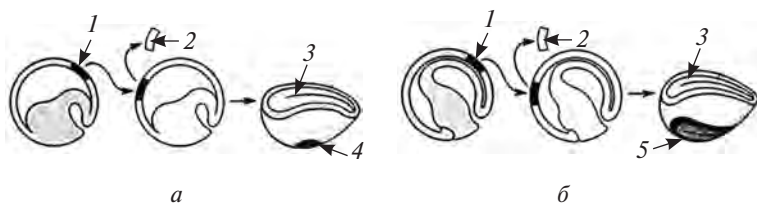


Рис. 88. Схемы опыта Г. Шпемана по детерминации клеток эктодермы на стадии ранней (а) и поздней (б) гастрюлы у тритона (по Saxen, Toivonen, 1962):

1 — презумптивная нейральная эктодерма; 2 — презумптивный эпидермис;
3 — нервная пластинка; 4 — формирующийся эпидермис;
5 — формирующаяся вторичная нервная пластинка

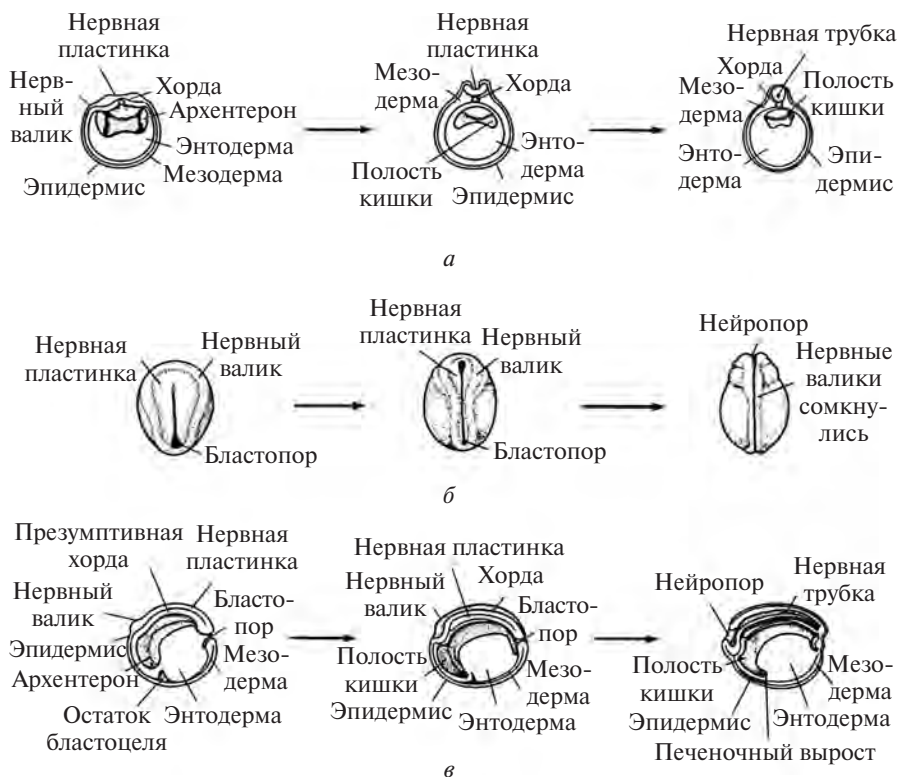


Рис. 89. Нейруляция у лягушки (ранняя — слева, средняя — в центре и поздняя — справа нейрулы) (по Balinsky, 1975):
а — поперечный разрез; б — вид со спинной стороны; в — сагиттальный разрез

Ранняя гастрала лягушки имеет шарообразную форму, поздняя, несколько вытягиваясь в длину, приобретает форму овала благодаря образованию нервных (медуллярных) валиков. Это парные утолщенные гребневидные складки эктодермы, возникающие по бокам дорсальной стороны тела зародыша. Нервные валики ограничивают широкую дорсальную полосу эктодермы, именуемую нервной пластинкой. Нервная пластинка является зачатком спинного и головного мозга, представляя собой нейроэктодерму. Остальная часть эктодермы становится кожной (эпидермальной) эктодермой. Приподнимаясь все выше, нервные валики начинают сближаться друг с другом, срastaются и образуют непарную ганглиозную пластинку, или нервный гребень. Одновременно нервная пластинка сворачивается в трубку. Нервная трубка и ганглиозная пластинка погружаются под кожную эктодерму, последняя смыкается над ними в непрерывный слой и дифференцируется в эпидермис. После сращения кожной эктодермы ганглиозная пластинка оказывается зажатой между нею и нервной трубкой.

Эмбриональная индукция — взаимодействие частей развивающегося зародыша. Главным в эмбриональной индукции является то, что один участок зародыша влияет на судьбу другого участка. Классические опыты по исследованию эмбриональной индукции были проведены Г. Шпеманом (1869—1941) и Х. Мангольд (1898—1924) на зародышах амфибий (1924). Они использовали два вида тритонов: тритона гребенчатого, яйца которого лишены пигмента и потому имеют белый цвет, и тритона полосатого, яйца которого благодаря пигменту имеют желто-серый цвет. Опыт заключался в следующем: кусочек зародыша тритона гребенчатого из области дорсальной губы blastopore на стадии гастралы пересаживали на боковую или вентральную сторону гастралы тритона полосатого. В месте пересадки происходило развитие дополнительного комплекса осевых органов: нервной трубки, хорды, просвета кишки, а также и других органов (рис. 90).

Развитие может достичь довольно продвинутых стадий с образованием дополнительного зародыша на боковой или вентральной стороне зародыша реципиента. Дополнительный зародыш содержит в основном клетки зародыша реципиента, но светлые клетки зародыша-донора тоже обнаруживаются в составе различных органов. Из этого опыта можно сделать несколько выводов:

- участок, взятый из спинной губы blastopore, способен направлять или даже переключать развитие того материала, который находится вокруг него, на определенный путь развития. Он как бы организует, или индуцирует, развитие зародыша как в обычном, так и в нетипичном месте;
- боковая и брюшная стороны гастралы обладают более широкими потенциями к развитию, нежели их презумптивное проспективное направление, так как вместо обычной поверхности тела там образуется зародыш;
- достаточно точное строение новообразованных органов в месте пересадки указывает на эмбриональную регуляцию.



Рис. 90. Схема опыта Г. Шпемана и Х. Мангольд (по Гилберту, 1994):
 а — пересадка спинной губы бластопора
 на место презумптивного эпидермиса брюшной стороны;
 б — формирование комплекса осевых структур в области трансплантата;
 в — формирование второго зародыша, соединенного с первым

Данный вид индукции был назван *первичной эмбриональной индукцией*, а спинная губа бластопора — *первичным эмбриональным* (шпемановским) *организатором*. Первичный организатор был открыт у представителей хвостатых амфибий, но вскоре гомологичные ему структуры были найдены у всех позвоночных и низших хордовых.

Строго говоря, индукция развития нервной трубки под действием подстилающей хордомезодермы не является самой ранней и базируется на прошедшей перед этим индукции мезодермы (см. ниже). Тем не менее исторически именно за этим процессом закрепился термин «первичная эмбриональная индукция».

Дальнейшее внимание исследователей было сконцентрировано на развитии нервной системы под действием подлежащей хордомезодермы и изучении природы факторов индукции. В частности, Г. Шпеман и Х. Мангольд показали, что индукционные эффекты порождаются не только живыми, но и убитыми тканями. Это послужило началом поиска специфических веществ, способных оказывать индукционное действие. Более того, для реализации первичной эмбриональной индукции не обязателен

был и прямой контакт между материалом хордомезодермы и эктодермой. В результате многочисленных исследований химической природы веществ, вызывающих индукцию, было показано, что они имеют белковую природу.

Первая по времени развития индукция протекает на стадиях средней — поздней бластулы. В раннем развитии амфибий она связана со спецификацией мезодермы.

Клеточные экспланты дорсальной маргинальной зоны бластулы на стадии 128 бластомеров дают начало эпидермальным структурам, а клетки этой же области, взятые одним клеточным циклом позже, — элементам осевой мезодермы.

Опыты П. Ньюкупа (P. Nieuwkoop, 1917—1996) показали, что материал хордомезодермы не преддетерминирован в яйце, а специфицируется в ходе дробления. В частности, если на стадии средней бластулы сделать разрез в экваториальной области и повернуть анимальную половину зародыша на 180°, то хордомезодерма формируется из материала бывшей вентральной стороны, который после поворота занял дорсальное положение. Изолировав анимальную, краевую и экваториальную области, П. Ньюкуп установил, что при культивировании изолированного анимального зачатка образуется эктодерма, из краевой области — мезодерма, а из вегетативной — энтодерма. Культивирование анимального зачатка вместе с вегетативным приводит к формированию мезодермы в дополнение к уже имеющимся экто- и энтодермальным закладкам.

Таким образом, дорсальные вегетативные бластомеры оказывают индукцирующее действие на клетки, лежащие в краевой зоне, побуждая их к развитию в мезодермальном направлении. Эту индукцию называют *ньюкуповской*, а вегетативно-дорсальную область зародыша лягушки — *центром Ньюкупа* (ньюкуповским организатором).

Центр Ньюкупа образуется в результате поворота кортикального слоя цитоплазмы в оплодотворенных яйцах амфибий. Во время этой ротации материнский фактор (белок Disheveled, Dsh) перемещается из вегетативной области яйца на будущую дорсальную сторону, ингибирует активность киназы GSK-3, стабилизируя таким образом β -катенин, концентрация которого возрастает.

В процессе роста ооцита амфибий поблизости от его вегетативного полюса синтезируется большое количество белков, обеспечивающих индукционные каскады в развитии. Одним из них является β -катенин, исходно равномерно распределенный в цитоплазме зиготы.

В результате в клетках дорсальной области образуется транскрипционный фактор β -катенин/Tcf3, обеспечивающий активацию экспрессии гена *siamois* (рис. 91).

Белок Siamois обеспечивает экспрессию гена *goosecoid* (*gsc*), ключевого в образовании хордомезодермы. В регуляции его экспрессии участвуют

белки суперсемейства TGF- β – Vg1 и белки, родственные Nodal. Благодаря асимметричной локализации β -катенина гены группы *Xnr* (*Xenopus nodal related*) более активно экспрессируются в бластомерах дорсальной области, создавая на стадии поздней бластулы предпосылки дормирования хордомезодермы. Ген *nodal*, экспрессия которого также активируется β -катенином, у зародышей всех позвоночных активен в мезодерме только левой стороны тела, определяя, таким образом, лево-правую асимметрию. Фактически продукт гена *goosecoid* является регуляторным белком, активирующим работу других генов, в том числе и кодирующих ряд белков, секретируемых клетками шпемановского организатора в межклеточное пространство.

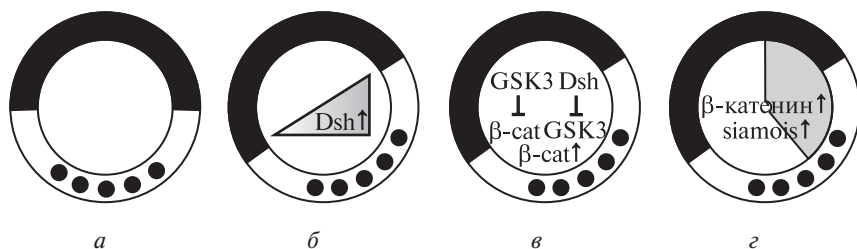


Рис. 91. Дорсализация зародыша амфибий (по Дондуа, 2005):
 а – момент оплодотворения; б – поворот кортикальной цитоплазмы;
 в – накопление β -катенина; г – инициация экспрессии *siamois*.

Черные круги – Dsh, кортикальная цитоплазма
 анимального полюса – черный, вегетативного полюса – белый цвет

Известно более десятка генов, экспрессирующихся в области организатора и контролирующих синтез белков, предназначенных на экспорт (рис. 92). Они поддерживают дифференциацию хордомезодермы и служат необходимым условием нейрализации прилегающей эктодермы.

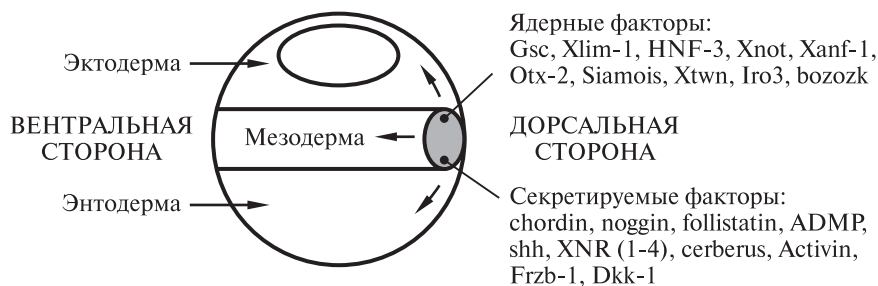


Рис. 92. Гены организатора шпорцевой лягушки
 (по De Robertis e. a., 2001)

Специфичность влияния определяется не только природой воздействия, но и свойствами самой реагирующей ткани. Так, на вентральной стороне зародыша создается максимальная концентрация белков семейства BMP (*Bone Morphogenetic Proteins*, морфогенетические белки костного мозга), в частности **BMP-4**.

Связываясь с рецепторами мембраны эмбриональных клеток, они препятствуют («запрещают») их дифференцировке в нервную ткань и другие производные осевых зачатков, «разрешая» при этом развитие только в сторону покровной эктодермы. Белки *chordin*, *noggin*, *folistatin* обладают сильным ингибирующим действием в отношении BMP-4, связываясь с его молекулами и препятствуя их связыванию с рецепторами зародышевых клеток. В результате такого двойного отрицания, т. е. «ингибирования ингибитора», создаются условия, препятствующие дифференцировке данного участка зародыша в направлении формирования вентральных структур (рис. 93).

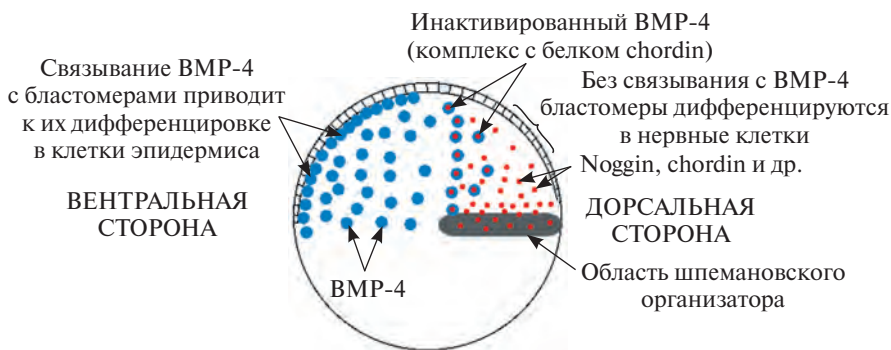


Рис. 93. Дифференцировка нейральных производных

Фактически нейтрализация эктодермы представляет собой реализацию некоего «основного состояния» (ground state) системы. Ее иногда называют *индукцией по умолчанию* (default induction), поскольку формирование нервной трубки происходит в случае отсутствия особого вентрализирующего сигнала.

Как ньюкуповский, так и шпемановский организаторы представляют собой неоднородные области, части которых содержат неодинаковое количество тех или иных регуляторных белков.

Каждая система эмбриональной индукции состоит по меньшей мере из двух компонентов: ткани, способной синтезировать индуцирующие стимулы, и ткани, способной воспринимать эти стимулы и реагировать на них. Способность отвечать специфическим образом на данный стимул (индуктор) называется компетенцией.

Некоторые индукторы, по-видимому, более или менее специфичны в определении судьбы индуцируемой ткани. Если по схеме опыта Г. Шпемана и Г. Мангольд пересадить спинную губу ранней гастролы, то индуцируется преимущественное развитие структур переднего мозга (*головной индуктор*), а при пересадке спинной губы поздней гастролы — спинной мозг и мезодермальные ткани (*туловищный индуктор*). Специфичность их действия зависит от морфогенетических движений, в которые они вовлекаются. Если в виде смеси клеток имплантировать в зародыш оба эти индуктора, то получаются нормально развитые зародыши.

Другие индукторы действуют как неспецифические пусковые механизмы, высвобождая ответ, уже детерминированный в клетках индуцируемой ткани.

Пересадка слухового пузырька, носовой плакоды или гипофиза в область боковой линии эмбриона тритона влечет за собой формирование конечности.

Явления индукции многочисленны и разнообразны. Помимо первичной индукции со стороны спинной губы бластопора описаны индукционные влияния на более поздних, нежели гастрология, этапах развития. Все они являются вторичными и третичными, представляя собой каскадные взаимодействия, типичные для дифференцировки.

На стадии ранней гастролы имплантированная дорсальная губа может индуцировать формирование осевых органов почти в любом месте зародыша, где имеется эктодерма. Однако с возрастом эктодерма теряет способность реагировать на воздействие спинной губы, но может реагировать на новые индукторы.

Пример вторичной индукции — действие глазного бокала на прилежащий покровный эпителий (см. рис. 84). В результате вглубь отшнуровывается зачаток хрусталика (хрусталиковый пузырек). Схожим образом задний мозг индуцирует в прилегающей к нему области эпителия образование слуховых пузырьков. Пример третичной индукции — изменения находящегося над хрусталиком покровного эпителия и трансформация его в прозрачное вещество роговицы.

Различают *гетерономную* и *гомономную* виды индукции. К гетерономной относят случаи, при которых одна часть зародыша индуцирует образование иного органа. Гомономная индукция заключается в том, что индуктор побуждает окружающий материал к развитию в том же направлении, что и он сам.

Так, хордомезодерма индуцирует появление нервной трубки, а участок нефротомы, пересаженный другому зародышу, способствует развитию окружающего материала в сторону формирования головной почки, прибавлению в культуру фибробластов сердца кусочка хряща, влечет за собой процесс его образования.

Чтобы воспринять действие индуктора, компетентная ткань должна обладать хотя бы минимальной организацией. Одиночные клетки не воспринимают действие индуктора, а чем больше клеток в реагирующей ткани, тем активнее ее реакция. Для оказания индуцирующего действия иногда достаточно лишь одной клетки индуктора. Индукционные взаимодействия могут проявляться в культуре ткани *in vitro*, но по-настоящему полноценными они бывают только в структуре целостного организма.

1.4.7. ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА К ГЕНОМУ

Регуляция активности генома происходит и под влиянием внешних по отношению к клетке факторов. Это многочисленные сигнальные молекулы, представленные как низкомолекулярными соединениями (неорганические ионы, газообразные (NO) и классические нейромедиаторы, циклические нуклеотиды и т. п.), так и белками (факторы роста, белки Smad, Wnt, Hedgehog, пептидные гормоны и др.). Их внутриклеточные пути проведения сигнала функционируют взаимосвязанно, создавая предпосылки для интегральной реакции клеток развивающегося эмбриона.

Несмотря на огромное множество сигнальных молекул и их рецепторов, существует не более десятка базовых типов сигнальных систем, используемых для межклеточной коммуникации в ходе эмбриогенеза. Из них наиболее значимыми для развития высших позвоночных, особенно их нервной системы, представляются сигнальные системы действия белковых продуктов генов *bmp*, *Wnt*, *Notch/Delta*.

Белки BMP (**B**one **m**orphogenetic **p**roteins) относятся к многочисленному семейству трансформирующих ростовых факторов β (Transforming Growth Factor-beta, TGF- β). Молекулярная масса колеблется от 10 до 30 кДа. Связываются с гетеродимерным рецептором цитоплазматической мембраны, состоящим из двух субъединиц — 1-го и 2-го типов. Субъединица 2-го типа — это протеинкиназа, фосфорилирующая субъединицу 1-го типа по остаткам серина или треонина. Это, в свою очередь, приводит к дальнейшему фосфорилированию другой группы белков — R-Smad, образующих крупные комплексы с им подобными белками цитозоля (Co-Smad). Эти комплексы относятся к ген-регуляторным белкам. Они перемещаются в ядра и связываются со специфическими последовательностями ДНК (BMP-реагирующие элементы, BMP response elements), активируя соответствующие гены (рис. 94, а).

Существует и третий подкласс Smad белков — I-Smad, предотвращающих фосфорилирование R-Smad белков или образование комплекса между R-Smad и Co-Smad.

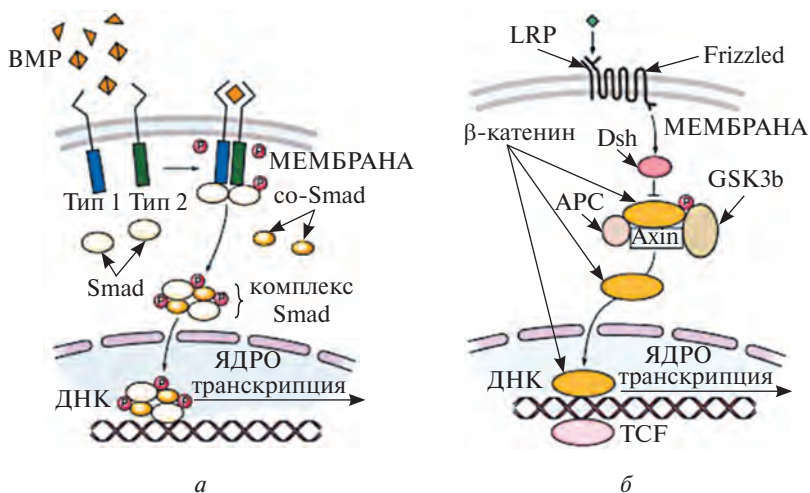


Рис. 94. Схема передачи сигнала к геному посредством белков семейства BMP (а) и Wnt (б) (по Sanes e. a., 2006)

Другие критически важные для развития пути активируются белками семейства Wnt. Они относятся к паракринным факторам, секретируемым клетками, и способны диффундировать на незначительные расстояния во внеклеточном пространстве от места своего образования. У человека выявлено 16 белков семейства Wnt.

Термин Wnt был предложен в 80-е гг. XX века, когда было установлено, что гены, необходимые для формирования крыла у дрозофилы (*Wingless genes*), и гены, активируемые при раке, вызываемом вирусными вставками (*viral integration*, *Int-1*), гомологичны друг другу.

Белки Wnt связываются с рецептором Frizzled, представляющим интегральный мембранный белок с семью трансмембранными доменами (рецептор, связанный с G-белками). Рядом с ним располагается второй компонент рецепторного комплекса — белок LRP. Связывание Wnt с LRP приводит к ассоциации содержащегося в цитозоле β-катенина с другим внутриклеточными белками, включая Axin, GSK3b и APC. Этот комплекс непрерывно распадается (из-за активности киназы GSK3) и существует внутри клетки кратковременно. Взаимодействие Wnt с Frizzled активирует фосфопротеин Dishevelled (Dsh), предотвращающий деградацию комплекса и способствующий накоплению β-катенина. В результате некоторое количество β-катенина попадает в ядро, где образует комплекс с белком TCF (β-катенин выступает в роли его кофактора), который связывается с ДНК и активирует гены-мишени (рис. 94, б).

Известно о существовании естественных блокаторов рассмотренных сигнальных путей. Для BMP это белки *follistatin*, *noggin* и *chordin*, для Wnt — *cerberus*, *FrzB* и *Dkk*. В обоих случаях речь идет о предотвращении связывания сигнальной молекулы с соответствующим рецептором.

Передача сигнала к геному может происходить и без участия молекул, свободно диффундирующих в интерстиции. В этом случае речь идет о коммуникации, основанной на прямом контакте между клетками, определяемой взаимодействием встроенных в мембрану молекул (сигнальной и рецептора). Одной из таких систем, активно функционирующих в эмбриогенезе, является Delta/Notch (рис. 95).

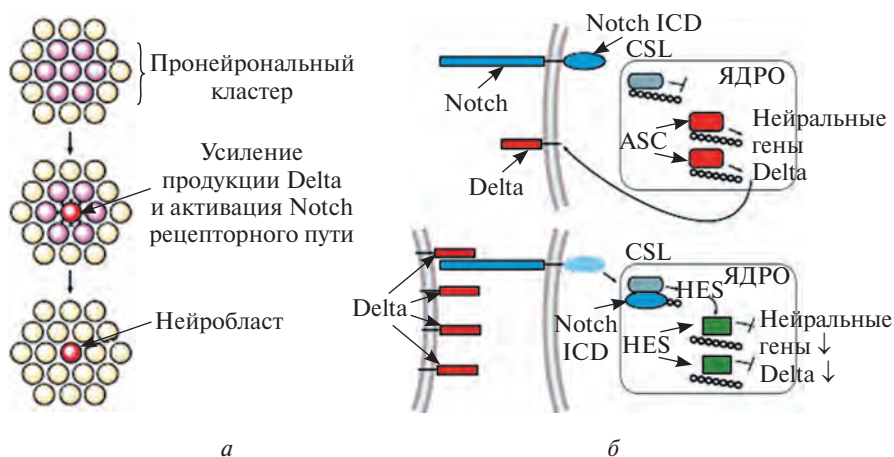


Рис. 95. Схема латерального ингибирования (а) и передачи сигнала в системе Delta/Notch (б) (по Sanes e. a., 2006)

Лигандом выступает белок Delta, а его рецептором — интегральный белок Notch. В результате их взаимодействия в клетке содержащей Notch, активируется протеаза, отщепляющая от Notch внутриклеточный домен (Notch intercellular domain, Notch ICD). Этот фрагмент взаимодействует с фактором SuH (Suppressor of Hairless, известный также как CSL), и они вместе перемещаются в ядро, выступая в качестве транскрипционных факторов. Мишенью их действия является ген *Hairy* или *Enhancer of Split* (HES). Его продукты подавляют дальнейшую нейрализацию ткани, опосредованную активностью системы генов *achaete scute* (ASC).

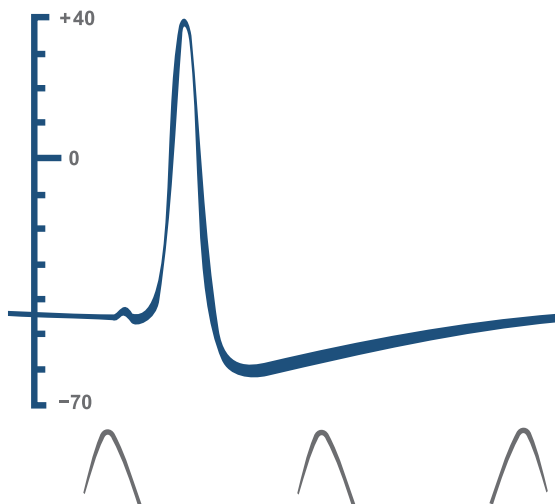
Указанный механизм используется в случае *латерального ингибирования*, когда в ходе эмбриогенеза требуется ограничить появление клеток определенного типа из общей массы, целиком способной к развитию в заданном направлении. В частности, оно наблюдается при развитии нейро-

бластов. В этом случае группа эктодермальных клеток экспрессирует proneйрональные гены *achaete* и *scute*, одним из продуктов которых является белок Delta. Для центрально расположенной клетки (клеток) характерен повышенный уровень экспрессии, что приводит к увеличению представительства молекул Delta на их поверхности. Связываясь с Notch рецепторами окружающих их клеток, он подавляет в них активность генов *achaete* *scute* (ASC), что приводит как к ингибированию нейрализации, так и побочному снижению экспрессии даже небольших порций фактора Delta. Как следствие, только центрально расположенная клетка продолжает экспрессировать proneйрональные гены, трансформируясь в нейробласт.

Известно и о существовании *латеральной индукции*, когда посредством активации Notch-рецептора продуцирующая к нему лиганды клетка побуждает своих соседей к развитию в том же направлении, что и она сама. В результате вся популяция клеток специализируется однообразно, а не в разных направлениях, как в случае латерального ингибирования.

Приведенные примеры далеко не полно показывают все разнообразие и сложность имеющихся внутриклеточных механизмов регуляции экспрессии генов в ходе эмбриогенеза. Однако их полная детализация не входит в задачи данного руководства.

ФИЗИОЛОГИЯ НЕРВНЫХ КЛЕТОК И СИНАПСОВ



2.1. МЕМБРАННЫЙ ТРАНСПОРТ

Ключевой особенностью любой клеточной мембраны является способность избирательно осуществлять перенос веществ в клетку или из клетки. Благодаря барьерной функции мембраны по разные ее стороны создается неоднородное распределение ионов, низкомолекулярных органических веществ, белков и т. п.

2.1.1. ТРАНСПОРТНЫЕ СВОЙСТВА МЕМБРАНЫ

В зависимости от способности проникать через липидный бислой все многообразие молекул в организме можно разделить на три группы:

- **мелкие неполярные молекулы:** например, молекулярный кислород (O_2 , 32 Да), диоксид углерода (CO_2 , 44 Да). По всей видимости, они способны легко растворяться в липидном бислое и, как следствие, легко диффундировать через него;

- **незаряженные полярные молекулы:** они также достаточно легко диффундируют через бислой в том случае, когда их молекулярная масса невелика, например вода (H_2O , 18 Да), этанол (C_2H_5OH , 46 Да). Повышение $M(r)$ снижает способность к диффузии (глицерол, 92 Да) вплоть до почти полной ее остановки (глюкоза, 180 Да);

В 1988 г. в мембране эритроцитов человека был обнаружен трансмембранный белок, отнесенный впоследствии к семейству **аквапоринов**. В плазмалемме он образует канал, предназначенный для транспортировки воды со скоростью, в 10–100 раз превышающей скорость ее обычной диффузии через мембрану. Аквапорины млекопитающих (13 типов) разделяют на две большие группы — собственно *аквапорины* и *акваглицеропорины*. Гомологи этих белков обнаружены у бактерий и растений.

Аквапорин содержит 6 трансмембранных доменов (I–VI), соединенных 5 петлями (A–E), с N- и C-концевыми цитозольными участками, окружающими центрально расположенную пору канала (рис. 96). «Половинки» аквапорина демонстрируют ~20 % гомологию в своих аминокислотных последовательностях, что предполагает разрастание семейства аквапоринов за счет дубликации исходного гена. Цитоплазматическая петля В и внеклеточная петля Е похожи

друг на друга и содержат консервативный мотив NPA (аспарагин, пролин, аланин). Предполагается, что за счет своей гидрофобности эти петли являются структурными компонентами водной поры канала. Аквапорины образуют четырехкомпонентные мембранные кластеры (тетрамеры), причем каждый из четырех мономеров действует как водный канал. Участвуют в водном обмене в мозге, будучи характерными для клеток глии (эпендимоцитов).

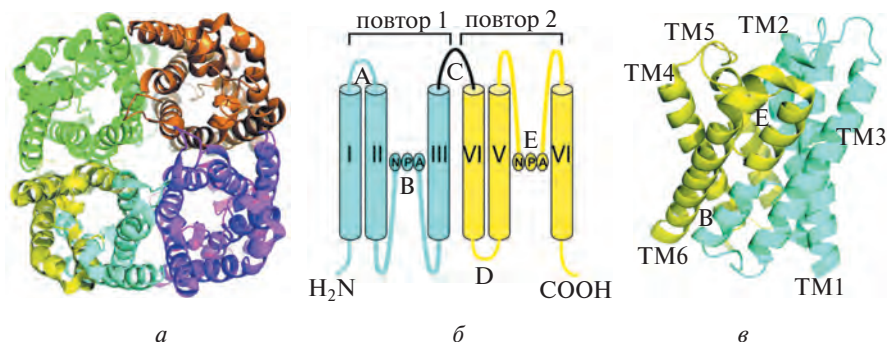


Рис. 96. Структурная организация водопереносящего аквапорина AqpZ *Escherichia coli* (по Fu & Lu, 2007):

a – тетрамер AqpZ; *б* – мембранная топология аквапорина (мономер);
в – расположение в плоскости мембраны

- **ионы и заряженные молекулы:** липидный бислой для них практически непроницаем (вне зависимости от размера), поскольку электростатическое притяжение к ним молекул воды делает невозможным внедрение в углеводородную фазу бислоя.

Искусственные липидные мембраны в 1 млрд (!) раз более проницаемы для воды, чем для Na^+ или K^+ .

Таким образом, для транспорта в клетку и из нее различных ионов, сахаров, аминокислот, нуклеотидов и других метаболитов необходимо наличие специальных молекул — *мембранных транспортных белков*. Они представляют собой лишь одну из групп ассоциированных с мембраной белков.

Считается, что 50 % массы плазматических мембран у животных составляют белки. При этом 25–30 % генома кодирует именно их синтез.

В зависимости от выполняемой функции мембранные белки подразделяются на четыре большие группы:

- транспортные белки — ответственные за трансмембранный перенос веществ;
- линкеры — связывают мембрану с макромолекулами, расположенными как внутри, так и снаружи клетки;

- рецепторы — предназначены для распознавания и передачи сигнала из внеклеточной среды внутрь клетки;
- ферменты, катализирующие специфические реакции.

Рассмотренные молекулы могут по-разному связываться с липидным бислоем (рис. 97): ковалентно, нековалентно и просто располагаться в пределах плазмалеммы в виде одиночной α -спирали, множественных α -спиралей или замкнутой на себя системы из α -спиралей (β -бочка), как это характерно для транспортных трансмембранных белков.

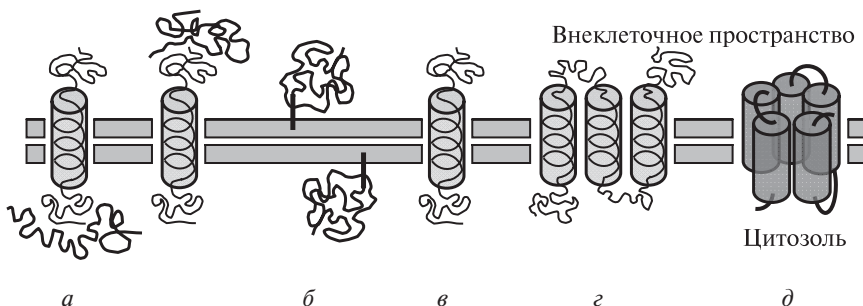


Рис. 97. Характер связывания и расположения мембранных белков:

а — нековалентное связывание; *б* — ковалентное связывание;
в — одиночная α -спираль; *г* — множественные α -спирали; *д* — β -бочка

Существует два типа транспортных мембранных белков (рис. 98):

- **белки-переносчики**: связывают растворенное вещество на одной стороне плазмалеммы и переправляют его на противоположную сторону за счет собственных конформационных изменений;
- **канальные белки**: формируют мелкие гидрофильные поры, сквозь которые посредством диффузии через мембрану проникают заряженные частицы.

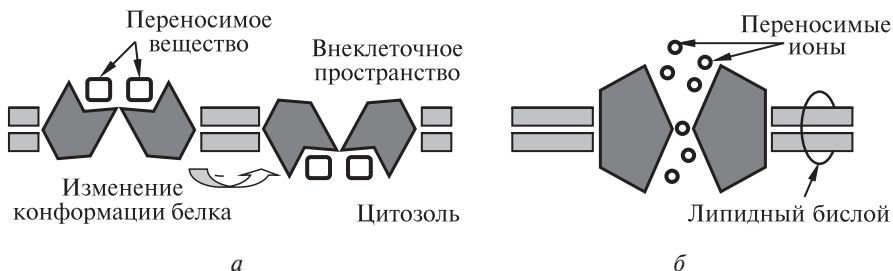


Рис. 98. Схема работы транспортных мембранных белков:

а — белки-переносчики; *б* — канальные белки

Большинство канальных белков обеспечивают транспорт неорганических ионов, поэтому их часто называют **ионными каналами**.

Клетки способны перемещать крупные белковые комплексы через плазмалемму (экзо- и эндоцитоз), а также мультимолекулярные пакеты веществ (синаптические везикулы), но для этого требуется специальный внутриклеточный аппарат.

В зависимости от способа перемещения вещества через мембрану выделяют два вида транспорта:

- *пассивный* — в этом случае транспорт осуществляется просто по концентрационному (химическому/электрохимическому) градиенту за счет *простой* (непосредственно через липидный бислой) или *облегченной* (при помощи переносчиков) диффузии;

- *активный* — для его осуществления требуются затраты энергии, запасенной ранее в форме АТФ, поскольку перенос веществ осуществляется против их концентрационного градиента.

Различают *первичный активный транспорт*, когда метаболическая энергия (гидролиз АТФ) напрямую используется для конформационной трансформации переносчика с последующим перемещением им же вещества через мембрану, и *вторичный активный транспорт*, когда распад АТФ первоначально расходуется на создание трансмембранных градиентов ионов, прежде всего Na^+ , потенциальная энергия которых используется для последующего переноса других веществ через мембрану (сопряженный транспорт).

Использование белковых переносчиков в случае пассивного транспорта весьма выгодно, поскольку обеспечивает движение крупных молекул через мембрану со скоростью, во много раз (например, для глюкозы в 10 тыс. раз) превышающей скорость молекул при обычной диффузии через липидный бислой.

В отличие от простой облегченной диффузии зависит не только от концентрационного градиента переносимого вещества, но и в первую очередь от количества/плотности на мембране используемых переносчиков, скоростей связывания (высвобождения) переносимого вещества и конформационных изменений белка-переносчика.

Для электрически нейтральных молекул направление пассивного транспорта определяется только концентрационным градиентом. Иначе обстоит ситуация с заряженными частицами. При их перемещении через мембрану создается неравномерное распределение положительных и отрицательных зарядов по разные ее стороны. Как следствие, образуется электрический потенциал (напряжение) на мембране (в живой клетке внутренняя сторона заряжена отрицательно по отношению к наружной). В результате возникает электрохимический градиент, определяющий движение заряженных раство-

ренных частиц через мембрану. Для некоторых ионов концентрационный и электрический градиенты действуют в одном направлении, усиливая друг друга (например, в отношении Na^+), для других (K^+), напротив, ослабляют друг друга.

2.1.2. ПЕРВИЧНЫЙ АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ

Для успешного переброса ионов через мембрану против их электрохимического градиента необходимы затраты энергии. В клетках эукариот для этих целей используется энергия гидролиза АТФ, т. е. трансмембранные переносчики, по сути, представляют собой *АТФазы*.

В мембране архебактерий (*Halobacterium halobium*) содержится бактериородопсин, трансмембранный белок, использующий энергию света для перекачки H^+ на внешнюю сторону мембраны с целью создания градиента протонов для последующего синтеза АТФ.

Центральную роль в активном транспорте играет $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФаза ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насос). Она присутствует в плазматической мембране почти всех клеток живых организмов, и ее содержание может превышать 10 % от общего количества белка клетки. На работу насоса затрачивается не менее трети от всей энергии, вырабатываемой клеткой, а в ряде случаев значение достигает 70 %.

Фермент впервые был выделен из нервов краба в 1957 г. и исследован Й. К. Скоу (Jens Christian Skou, 1918–2018)¹, удостоенным за свои исследования Нобелевской премии по химии (1997).



В ходе работы $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы последовательно протекает ряд реакций, конечным результатом которых является перенос трех ионов натрия из цитозоля во внеклеточное пространство в обмен на два иона калия. Первая модель такого переноса была предложена еще Й. Скоу и в целом подтверждена данными последующих исследований.

Согласно ей (рис. 99) на первом этапе происходит связывание ионов натрия с ориентированным в цитозоль доменом $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насоса. Это, в свою очередь, стимулирует его АТФазную активность. В результате молекула АТФ расщепляется и высокоэнергетический фосфат присоединяется к $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазе (фосфорилирование), вызывая ее конформационные изменения. Переход в новую конформацию приводит к высвобождению Na^+ на внешней стороне мембраны во внеклеточное пространство.

¹Skou J. C. The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves // Biochimica et Biophysica Acta. 1957. 23 (2). P. 394–401.

Одновременно с этим наблюдается связывание ионов калия с соответствующими участками $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насоса, отличными от сайтов связывания натрия. Присоединение K^+ вызывает отсоединение фосфата (дефосфорилирование) и, как следствие, возвращает $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазу в исходную конформацию. В результате ионы калия переносятся на внутреннюю сторону плазмалеммы, где незамедлительно высвобождаются и попадают в цитозоль.

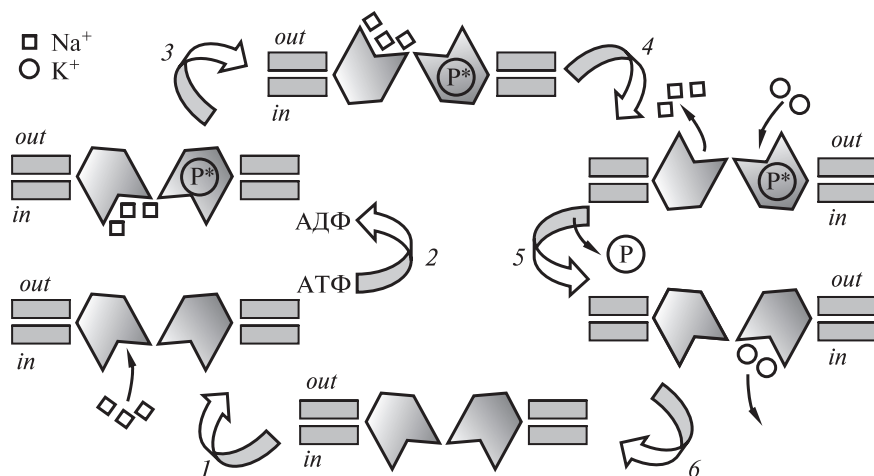


Рис. 99. Схема рабочего цикла $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы:
1–6 – последовательные стадии процесса

Весь цикл занимает около 10 мс и может повторяться многократно. При этом каждый последующий шаг цикла зависит от предыдущего и невозможность протекания хотя бы одной стадии приводит к остановке всего цикла, нарушая работу $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы.

Работа данного фермента находится под контролем многих факторов, в том числе и общего характера (температура, pH). $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФаза активируется ионами натрия (только со стороны цитоплазмы) и калия (только с внеклеточной стороны). При этом ее специфичность по отношению к натрию гораздо выше.

Специфическим блокатором $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы является убаин (строфантин G), снижающий ее активность на 50 % в концентрациях порядка 10^{-7} моль/л. Терапевтический эффект сердечных гликозидов (препараты наперстянки, содержащие строфантин и дигитонин) обусловлен именно его действием на $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насос мембраны кардиомиоцитов. Угнетение активности АТФазы приводит к накоплению внутри клеток Ca^{2+} за счет опосредован-

ного снижением натриевого потенциала уменьшения работоспособности $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обменника. В результате дополнительно накопленные запасы ионов кальция могут использоваться для активации сократительного аппарата миокарда.

В ходе каждого цикла работы $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы из клетки удаляется один положительный заряд: три иона натрия, перемещенных наружу, против двух ионов калия, перенесенных внутрь. Следовательно, $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -насос является электрогенным, т. е. создает электрический ток через мембрану (одна молекула $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы переносит от 150 до 600 «лишних» ионов натрия в секунду), что суммарно увеличивает мембранный потенциал примерно на 10 мВ в электроотрицательную сторону.

$\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФаза состоит из двух субъединиц (рис. 100, а).

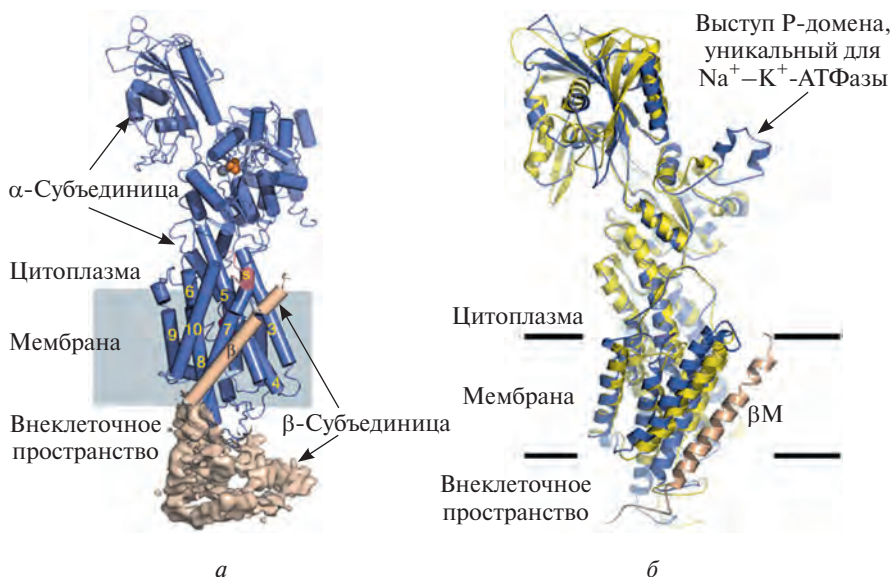


Рис. 100. Структурная организация $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФазы (а) и сравнительная структура $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ - (синий цвет) и Ca^{2+} - (желтый цвет) АТФаз (б) (по Morth e. a., 2007)

Более крупная α -субъединица (100–140 кДа) имеет от 8 до 12 трансмембранных сегментов (известны три изоформы), при этом оба терминальных участка (N и C) расположены в цитоплазме. Содержит сайты связывания с ионами Na и K и гомологична односубъединичным АТФазами Р-типа (Ca^{2+} -АТФаза). Она отвечает за ферментативную активность, предоставляет участки для связывания с ней нуклеотидов с целью последующего фос-

форилирования (между 4-м и 5-м сегментами). Меньшая β -субъединица (35–40 кДа) расположена преимущественно во внеклеточном пространстве (С-терминаль), и лишь один из ее сегментов пронизывает плазмалемму. Необходима для направления движения α -субъединицы к плазматической мембране и присоединения ионов К (является неотъемлемой чертой K^+ -переносящих АТФаз Р-типа, таких как Na^+-K^+ - и H^+-K^+ -АТФазы). Представлена β -субъединица тремя изоформами, две из которых (β_1 и β_2) обнаружены в нервной ткани.

Благодаря наличию K^+-H^+ -АТФаз в мембране обкладочных клеток желудка обеспечивается продукция соляной кислоты, а также трансмембранный перенос H^+ в ходе электронного транспорта при окислительно-восстановительных реакциях в митохондриях и хлоропластах.

Na^+-K^+ -АТФаза играет важную роль в поддержании осмотического давления в клетке. При снижении ее активности увеличивается внутриклеточная концентрация натрия, а затем и хлора, что вызывает приток воды и набухание клетки. Таким образом, организм животного способен регулировать поступление воды в ткани за счет перераспределения ионов по разные стороны от мембраны.

У растений избыточному осмотическому давлению воды, способному повредить мембрану, препятствует твердая клеточная стенка, а простейшие используют специальную вакуоль, периодически удаляющую избыток жидкости из их организма.

Не менее значимая роль принадлежит кальциевым насосам (Ca^{2+} -АТФазам). Существует два пути переноса излишков ионов кальция из цитозоля и, как следствие, два типа Ca^{2+} -АТФаз:

- **АТФазы внутриклеточных органелл:** предназначены для транспортировки ионов кальция во внутриклеточные депо (эндоплазматический ретикулум и митохондрии). Кальциевый цикл аналогичен циклу Na^+-K^+ -АТФазы, за исключением того, что возврат к исходной конформации вследствие дефосфорилирования происходит без предварительного связывания какого-либо иона. За время одного цикла в органеллы переносятся два иона кальция и гидролизуется одна молекула АТФ. Насос не является электрогенным, т. е. транспорт Ca^{2+} не сопровождается созданием разности потенциалов на мембране органелл за счет высокой ее проницаемости для других ионов. Молекула Ca^{2+} -АТФазы представляет собой полипептидную цепочку массой 100 кДа, структура которой схожа со строением α -субъединицы Na^+-K^+ -АТФазы (рис. 100, б);

- **АТФаза плазматической мембраны:** принципиально не отличается от рассмотренной выше, за исключением того, что в ходе цикла осуществляется перенос одного иона кальция на внешнюю сторону мембраны клетки.

В растительных клетках, грибах и бактериях вместо натриевого градиента на мембране создается градиент протонов. Он обеспечивается благодаря наличию H^+ -АТФаз в мембране (плазматической и вакуолярной) клеток указанных организмов. H^+ -АТФазы обнаружены и в животных клетках, где они используются для перекачки протонов против их электрохимического градиента в ряд органелл (лизосомы), что приводит к установлению нового уровня pH, оптимального для работы тех или иных, как правило протеолитических, ферментов.

2.1.3. ВТОРИЧНЫЙ АКТИВНЫЙ ТРАНСПОРТ

Теоретически возможными и реализующимися на практике являются три варианта переноса веществ посредством транспортных белков (рис. 101):

- **унипорт** — транспортный белок переносит то или иное вещество через мембрану в направлении концентрационного градиента вещества. Так, структура транспортера для глюкозы характеризуется наличием двух конформаций, в которых участки для связывания глюкозы попеременно оказываются на внешней либо внутренней стороне мембраны, обеспечивая перенос сахара в клетку или из клетки;

Унипорт, осуществляемый посредством транспортного белка, правильно классифицировать как пассивный (облегченная диффузия), а не активный транспорт через мембрану.

- **симпорт** представляет собой вариант *сопряженного транспорта*, при котором два различных вещества движутся в одном направлении через мембрану;

- **антипорт** представляет собой вариант *сопряженного транспорта*, при котором два различных вещества движутся в противоположных направлениях через мембрану.

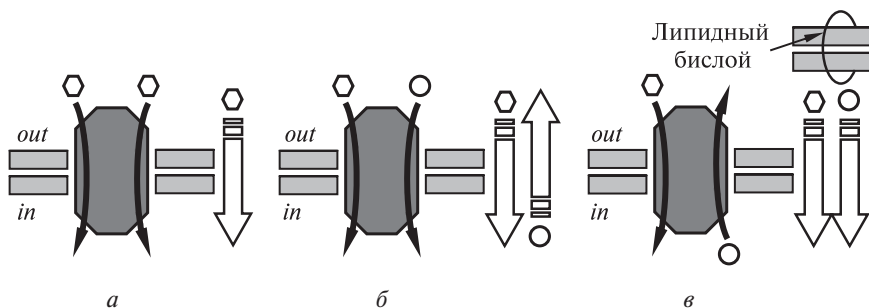


Рис. 101. Перенос веществ при помощи транспортных белков: а — унипорт; б — симпорт; в — антипорт. Объемными стрелками указано направление концентрационного градиента вещества (in — цитозоль, out — внеклеточное пространство)

В случае сопряженного транспорта одно из переносимых веществ перемещается через мембрану против своего концентрационного градиента.

Важнейшими мембранными транспортерами клетки являются:

- **$\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обменник** — при переносе наружу одного иона кальция внутрь клетки перемещаются три иона натрия. Благодаря высокой плотности молекул переносчика в мембране клетки данная система $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ -обмена в 50 раз эффективнее устраняет избыточный кальций из клетки, нежели системы активного транспорта Ca^{2+} . Представляет собой высокомолекулярный белок (120 кДа, 970 а.к., для натрий-кальциевого обменника сердечной мышцы), состоящий из 11 трансмембранных сегментов и большой внутриклеточной петли между 5-м и 6-м сегментами. С-Конец располагается внутри, а N-терминаль снаружи клетки;

В клетках с низким уровнем мембранного потенциала Na^+ -градиент не обеспечивает достаточной энергии для котранспорта Ca^{2+} . В мембране таких клеток (палочки сетчатки млекопитающих) натрий-кальциевый обменник носит несколько модифицированный характер (стехиометрия): на два перемещенных наружу иона Са приходится четыре внесенных внутрь иона Na и один удаленный из клетки ион К (по концентрационному градиенту). В результате внутриклеточная концентрация Ca^{2+} может быть понижена в сотни раз, нежели в случае использования «классического» натрий-кальциевого обменника при тех же значениях мембранного потенциала.

- **$\text{Na}^+ - \text{H}^+$ -обменник** — переносит (антипорт) ионы через мембрану в соотношении 1 : 1. Является одним из ключевых механизмов, участвующих в регуляции внутриклеточного pH (снижение внутриклеточной концентрации протонов приводит к защелачиванию цитозоля);

- **$\text{Cl}^- - \text{HCO}_3^-$ -обменник** — встречается в большинстве клеток и наряду с $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ -обменником участвует в поддержании внутриклеточного pH. Стехиометрия процесса 1 : 1. Структура сходна с таковой для калий-хлорного котранспортера;

В поддержании уровня внутриклеточного pH задействован еще целый ряд механизмов, включая и системы активного транспорта (см. далее).

- **$\text{Na}^+ - \text{Cl}^-$ -обменник** — обеспечивает поддержание постоянства внутриклеточной концентрации ионов хлора, что чрезвычайно важно для развития процессов торможения. Стехиометрия процесса 1 : 1;

В ряде случаев (клетки почки и аксон кальмара) в котранспорте ионов хлора участвуют ионы калия. Стехиометрия этих переносов в соотношении Na : K : Cl составляет 1 : 1 : 2 и 1 : 2 : 3 соответственно.

- **Na^+ -глюкозный котранспортер** — чрезвычайно активен в эпителиальных клетках тонкого кишечника, обеспечивает перенос глюкозы (1 : 1)

из просвета кишки внутрь выстилающих ее клеток. Дальнейший перенос (во внеклеточное пространство) осуществляется при помощи обычного транспортера для глюкозы;

Именно этот котранспортер был первым из открытых мембранных систем сопряженного транспорта (Р. К. Крэйн (Robert Kellogg Crane, 1919–2010), 1960).

• **K^+ – Cl^- -котранспортер** – вынос ионов хлора из клетки осуществляется за счет одностороннего тока с ионами калия в соотношении 1 : 1. Представляет собой белок (120 кДа, 1100 а. к.), состоящий из 12 трансмембранных сегментов, С- и N-концевые участки расположены в цитоплазме.

Существует также целая система транспортеров, обеспечивающая перенос нейромедиаторов в синаптические пузырьки и в клетку из области синаптической щели (обратный захват). Они будут рассмотрены при характеристике соответствующих механизмов химической передачи сигнала (см. подразд. 2.4). Таким образом, перенос веществ против электрохимического градиента может осуществляться и за счет пассивных механизмов транспорта. Тем не менее именно системы активного транспорта веществ создают ту исходную разницу в концентрациях вне и внутри клетки, которая обеспечивает работу котранспортеров и обменников.

2.1.4. ИОННЫЕ КАНАЛЫ ПЛАЗМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

Ионный канал представляет собой наиболее простое решение проблемы транспорта заряженных частиц через клеточную мембрану. Через гидрофильную пору, им образованную, за секунду проходит более 100 тыс. ионов, что на много порядков превышает скорость пассивной (облегченной) диффузии через липидный бислой и активного транспорта (посредством АТФаз или белков-переносчиков). В отличие от обычной водной поры ионный канал характеризуют ряд свойств (структурных и функциональных), на основании которых становится возможной их классификация и/или описание:

• **избирательность (селективность)** – ионы могут беспрепятственно проникать только через каналы, специально приспособленные для транспортировки того или иного иона через мембрану. Это стало возможным вследствие различий самих ионов (табл. 2). Так, ионы неодинаковы по величине (атомному радиусу), трехмерной конфигурации, величине и знаку заряда, а также количеству водных оболочек (гидратационному числу, рис. 102). Последнее различие наиболее существенно и часто определяет характер взаимодействия иона с белками канала. Отделение водных оболочек (что является необходимым требованием для прохождения иона через канал)

происходит с затратой энергии и является лимитирующим фактором, ограничивающим пропускную способность канала. Пространственные и связанные с электростатическим отталкиванием ограничения проводимости через канал также имеют место;

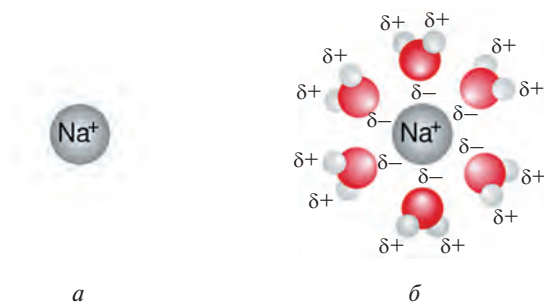


Рис. 102. Схематическое изображение свободного иона Na (а) и в окружении гидратной оболочки (б)

Проницаемость мембраны для иона определяется по формуле $P_{ion} = \frac{u \cdot \beta \cdot R \cdot T}{\alpha \cdot F}$,

где u — подвижность иона; β — коэффициент распределения между мембраной и раствором; α — толщина мембраны; F — постоянная Фарадея; R — газовая постоянная; T — абсолютная температура. Часто между понятиями «проницаемость» и «проводимость» ставят знак равенства, хотя последняя зависит не только от проницаемости, но также от количества и распределения ионов по обе стороны мембраны.

Таблица 2

Атомные радиусы и гидратационное число ряда физиологически важных ионов

Ион	Радиус иона в кристалле, нм	Гидратационное число, шт.
Na ⁺	0,095	4,5
K ⁺	0,133	2,9
Ca ²⁺	0,099	7,0
Mg ²⁺	0,066	10,0
Cl ⁻	0,181	2,9

• **управляемость** — ионные каналы не находятся постоянно в открытом состоянии (в противном случае не приходилось бы говорить о важности их работы, направленной на поддержание ионных концентраций внутри и вне клетки). Базовый переход из открытого состояния в закрытое определяется конформационными изменениями белка канала и регулируется (управляется) факторами (сигналами), поступающими снаружи или изнутри клетки.

Нахождение канала в открытом или закрытом состоянии определяется случайными флуктуациями конформации белка. Сигналы, повышающие (понижающие) проницаемость канала, увеличивают (уменьшают) вероятность нахождения структурного белка в той или иной конформации;

- **локализация** — помимо плазмалеммы, ионные каналы широко представлены среди мембран внутриклеточных органелл (например, митохондрий или эндоплазматического ретикулума);

- **количество пор** — большинство ионных каналов относится к однопорovým структурам, однако известно о существовании трансмембранных белков содержащих две (*two-pore channels*, TPCs) и более водных пор, используемых в качестве путей для переноса ионов через мембрану.

В зависимости от условий, определяющих открытие/закрытие (*gating*) ионного канала, выделяют:

- **активируемые натяжением (*stress-activated, stretch-activated*) каналы** — их открытие (закрытие) контролируется механическими силами, приложенными к белковым молекулам, образующим эти каналы (механочувствительные ионные каналы). Стереоцилии волосковых клеток кортиевого органа внутреннего уха соединены друг с другом при помощи тонких филаментов (нитей). Колебания базальной и покровных мембран кортиевого органа вызывают отклонения стереоцилий и, как следствие, натяжение филаментов. В результате они тянут на себя прикрепленные участки белка, вызывая открытие канала и последующее поступление внутрь клетки положительно заряженных ионов, что является первым этапом формирования нервного импульса. Филаменты сокращаются всего на 0,4 Å, и для этого необходимо усилие в $2 \cdot 10^{-13}$ Н, что свидетельствует о чрезвычайной чувствительности всей системы;

Активируемые натяжением каналы обнаружены и в секреторных клетках, а также в пресинаптических терминалях нервно-мышечного соединения. Все они обладают достаточно низкой селективностью.

- **управляемые напряжением (*voltage-gated*) каналы** — играют ключевую роль в распространении электрических сигналов. Их общим свойством является наличие заряженных областей (сенсоров напряжения), особенно чувствительных к уровню мембранного потенциала. В результате образуется своеобразная петля контроля: проводимость ионных каналов определяет мембранный потенциал, а последний, в свою очередь, регулирует работу ионных каналов. Данный тип каналов широко распространен как в животном мире, так и среди растительных организмов и простейших;

- **лиганд-управляемые (*ligand-gated*) каналы** — для их активации необходимо связывание белка канала с молекулой или молекулами какого-либо вещества (лигандом). Лиганд может присоединяться к белку канала как с внешней стороны (нейромедиаторы), так и со стороны цитозоля (цикли-

ческие нуклеотиды, фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат, фосфатидная кислота и т. д.). Указанный тип каналов формирует особую структуру, взаимодействие с которой химических молекул вызывает ответную реакцию клетки — *ионотропный рецептор*. При этом в качестве лигандов выступают нейромедиаторы — ацетилхолин, ГАМК, глицин и т. п. В случаях, когда в качестве лиганда выступает другое вещество, принято говорить, например, о нуклеотид-управляемых каналах и т. п. Активация лиганд-управляемых каналов приводит к изменению проницаемости мембраны для целого спектра ионов, прежде всего Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Cl^- , т. е. они могут быть отнесены как к высоко-, так и низкоселективным каналам. Подробное описание структуры лиганд-управляемых каналов приводится в разделе 3.

Некоторые ионные каналы настолько своеобразны по своим свойствам, что с трудом вписываются в «жесткие» рамки классификационных требований. Например, каналы транзитного рецепторного потенциала (*transient receptor potential channels*, TRP channels) могут быть активированы как сигнальными лигандами (производные липидов, капсаицин), так и напряжением, механическими силами, изменением температуры и т. п. Обладая низкой селективностью, они относятся к неселективным катионным каналам.

В настоящее время известно о нескольких сотнях ионных каналов. Подавляющее большинство их структур можно классифицировать на основании двух присущих им фундаментальных свойств управляемости и селективности.

2.1.5. ИОННЫЕ КАНАЛЫ ВОЗБУДИМЫХ МЕМБРАН

Один из принципов, положенных в основу классификации ионных каналов, — селективность по отношению к тому или иному иону. Четыре иона вносят решающий вклад в процессы межклеточной коммуникации — Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и Cl^- . Ниже приводится краткая характеристика ионных каналов, предназначенных для их трансмембранного переноса.

Детальное описание каждого из семейств ионных каналов является прерогативой обзорных статей и специализированных руководств.

• **Na^+ -каналы** базово подразделяются на потенциал-зависимые (управляемые напряжением) и потенциал-независимые (лиганд-управляемые с невысокой Na селективностью) группы.

Управляемые напряжением Na^+ -каналы (рис. 103) состоят из одной крупной α -субъединицы (260 кДа) и расположенных по бокам двух осевых β -субъединиц (36 кДа для β_1 и 33 кДа для β_2).

Именно α -субъединица образует трансмембранную пору, и ее наличия достаточно для функционирования канала, а β -субъединица выпол-

няет модулирующую роль. Крупная α -субъединица (см. рис. 12) состоит из четырех гомологичных доменов (I–IV), каждый из которых представлен шестью трансмембранными сегментами (S1–S6).

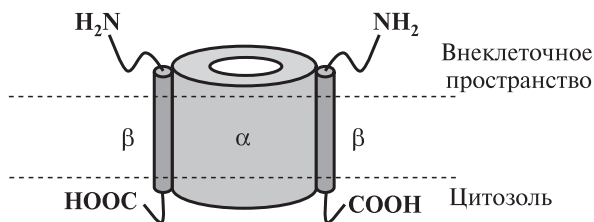


Рис. 103. Субъединичное строение Na^+ -канала (по Marban e. a., 1998)

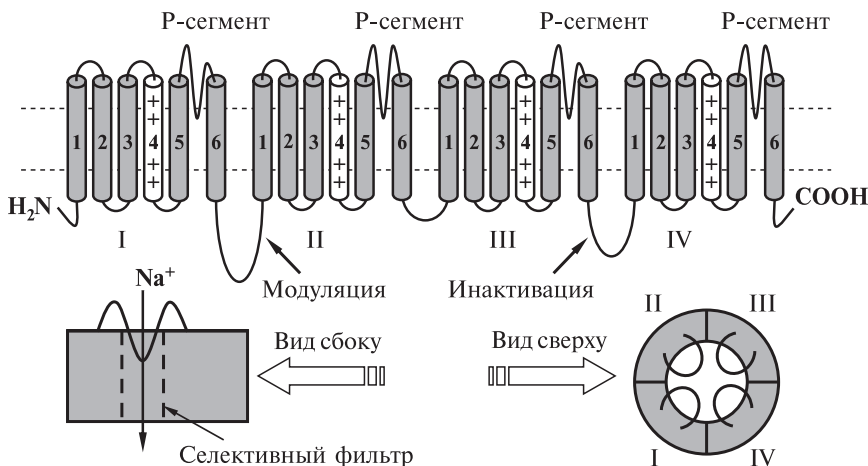


Рис. 104. Структура α -субъединицы потенциал зависимого Na^+ -канала (по Marban e. a., 1998)

Между сегментами S5 и S6 расположен окружающий пору сегмент (*P-segment*). В каждом домене сегмент S4 содержит положительно заряженные аминокислоты, обеспечивая работу воротного механизма при сдвигах мембранного потенциала, т. е. выступает в качестве сенсора напряжения. Так, в ходе деполяризации внутренняя сторона мембраны на короткий момент времени становится положительно заряженной, что вызывает смещение сегментов S4 (одноименные заряды отталкиваются друг от друга) в направлении внеклеточной среды, увеличивая вероятность пребывания канала в открытом состоянии (рис. 105).



Рис. 105. Сенсор напряжения потенциал-зависимого Na^+ -канала (по Marban e. a., 1998):
a – гиперполяризация (канал закрыт); *б* – деполяризация (канал открыт)

Короткая внутриклеточная петля, соединяющая III и IV домены, складываясь, блокирует пору канала и обеспечивает его инактивацию при длительной деполяризации мембраны. Такая модель «шара на цепочке» была предложена К. Армстронгом и Ф. Безанилла (Armstrong & Bezanilla, 1973), которые первыми зарегистрировали вызываемый смещением этого домена воротный ток (рис. 106).

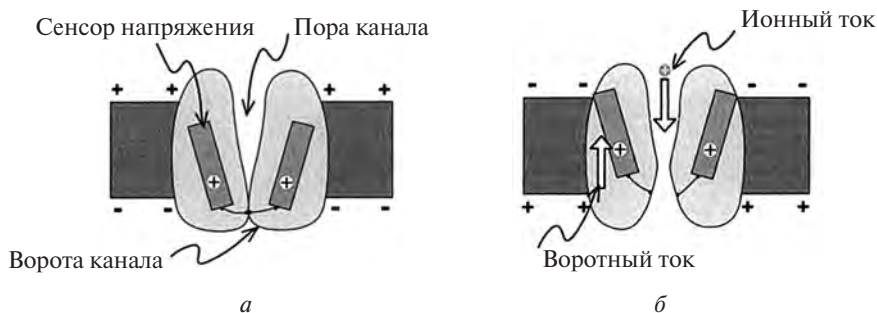


Рис. 106. Работа сенсора напряжения потенциал-зависимого канала (по Bezanilla, 2000):
a – канал закрыт; *б* – канал открыт

Таким образом, существует три состояния, в которых может находиться Na^+ -канал: закрытое, открытое и инактивированное. При этом ионы натрия способны проходить через канал, только когда он открыт (на начальном этапе развития потенциала действия в фазе деполяризации), и не способны пересекать мембрану при закрытом (в состоянии покоя мембраны) и инактивированном (на конечном этапе развития потенциала действия в фазе реполяризации) его состояниях (рис. 107).

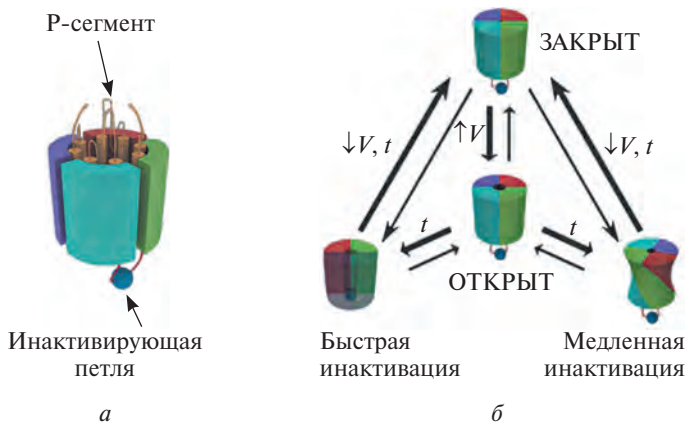


Рис. 107. Потенциал-чувствительный Na-канал (а) и его возможные состояния (б) (по Pfaff & Volkow, 2016).

$V\uparrow$ – деполяризация мембраны; $V\downarrow$ – реполяризация мембраны; t – время

Все потенциал-управляемые Na^+ -каналы относятся к одному семейству, кодируемому генами, расположенными преимущественно во 2-й, 3-й, а также 17-й хромосоме. К 2003 г. на основании локализации в тканях и фармакологических свойств (способности блокироваться тем или иным веществом) было выделено девять изоформ потенциал-управляемых Na^+ -каналов.

- **K^+ -каналы** подразделяются на несколько групп (у человека насчитывается 40 типов потенциал-чувствительных K^+ -каналов), обладающих рядом общих свойств. Так, для любого K^+ -канала характерно наличие заполненной водой поры, предназначенной для прохождения ионов калия; селективного фильтра, пропускающего через канал только ионы калия, и воротного механизма, благодаря которому возможен переход из открытого состояния в закрытое и наоборот.

Молекулярное строение K^+ и Na^+ -каналов сходно (рис. 108). Основу трансмембранной поры образуют четыре α -субъединицы, а по бокам от нее в цитозоле могут быть расположены осевые β -субъединицы, выполняющие модуляторную роль.

Если пора образована α -субъединицами одной изоформы, то такие каналы называются *гомомерными* (гомотетрамерными), если разными изоформами – *гетеромерными* (гетеротетрамерными). В зависимости от количества трансмембранных сегментов в α -субъединице K^+ -каналы подразделяются на три группы:

- **каналы, содержащие шесть трансмембранных сегментов (S1–S6).** Окружающий пору сегмент (*P-segment*) располагается между S5 и S6, а положительно заряженный сегмент S4 служит сенсором напряжения (рис. 109).



Рис. 108. Строение калиевого канала (KcsA) (по Doyle e. a., 1998):
 а – вид со стороны внеклеточного пространства; б – вид со стороны мембраны.
 Стрелка указывает положение селективного фильтра

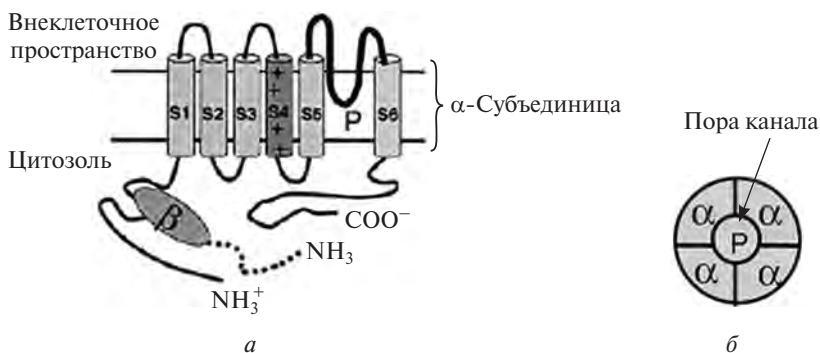


Рис. 109. Схема строения α -субъединицы K^+ -канала (а)
 и взаимное расположение α -субъединиц K^+ -канала (б),
 содержащего шесть сегментов (по Shieh, 2000)

Эти каналы могут находиться в трех состояниях: открытом, закрытом, инактивированном (рис. 110). В зависимости от того, какой участок белковой молекулы участвует в инактивации, выделяют N- (N-терминаль), C- (C-терминаль) или P- (P сегмент) инактивацию.

К указанной группе относятся многие потенциал-зависимые каналы, в том числе каналы *типа Shaker* (впервые был обнаружен у мутантов дрозофилы, которые начинали трепетать при эфирной анестезии); *калиевые каналы задержанного выпрямления* (K^+ -каналы, активирующиеся на конечном этапе развития потенциала действия, обеспечивая фазу реполяризации); *быстро инактивирующиеся калиевые каналы* (А-каналы, играющие важную

роль в генерации ритмической активности); *медленно активирующиеся калиевые каналы* (K_s) и Ca^{2+} -активируемые K^+ каналы (важны для развития следовой гиперполяризации);

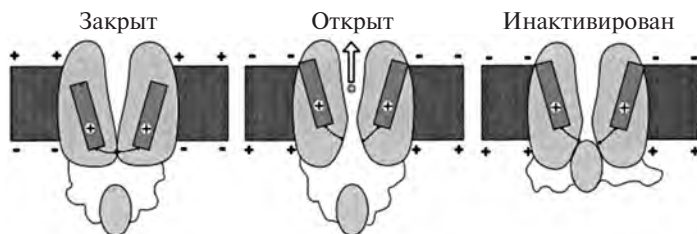


Рис. 110. Схематическое изображение трех возможных состояний K^+ -канала и модель «шара на цепочке» (по Bezanilla, 2000)

— *каналы, содержащие два трансмембранных сегмента* с Р-сегментом между ними. Важной структурной особенностью является отсутствие сенсора напряжения в структуре этих каналов (рис. 111, а). Существуют в виде гомотетрамеров.

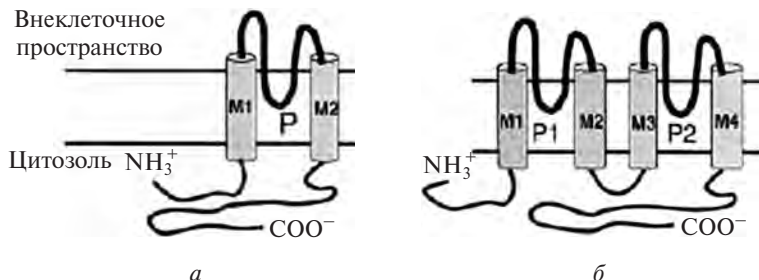


Рис. 111. Схема строения субъединицы K^+ -каналов, содержащих два (а) и четыре (б) трансмембранных сегмента (по Shieh, 2000)

Первая их группа представлена *АТФ-зависимыми K^+ -каналами*, нечувствительными к изменению мембранного потенциала. В норме они находятся в закрытом состоянии, однако при снижении внутриклеточной концентрации АТФ переходят в открытое состояние.

Вторая группа представлена *калиевыми каналами внутреннего выпрямления* (K_{ir}). Они обеспечивают движение калия внутрь клетки в случаях, когда мембранный потенциал становится отрицательным по отношению к равновесному потенциалу для калия. Со стороны цитозоля их проводимость регулируется Mg^{2+} и полиаминами (спермин, спермидин);

— **каналы, содержащие четыре трансмембранных сегмента** с двумя Р-петлями. Также не содержат сенсора напряжения. Функционально схожи с предыдущей группой, обладая менее выраженными свойствами внутреннего выпрямления (рис. 111, б). Именно к этому типу относятся K^+ -каналы утечки, ответственные за формирование мембранного потенциала нервных клеток.

Особую в функциональном отношении группу представляют калиевые S-каналы, слабо чувствительные к напряжению на мембране. Они обнаружены в нейронах *Aplysia*, будучи открытыми в состоянии покоя и закрываясь при действии на клетку серотонина.

В настоящее время известно свыше 200 генов (более 50 у человека), кодирующих белки калиевых каналов, расположенных в различных хромосомах.

• **Ca^{2+} -каналы** представлены достаточно большим количеством различных типов. Для них также характерно первичное подразделение на потенциал- и лиганд-управляемые. Существует три уровня (принципа) классификации управляемых напряжением Ca^{2+} -каналов.

В зависимости от величины сдвига мембранного потенциала, необходимого для активации канала, различают:

— высокопороговые (HVA, *high voltage-activated*) Ca^{2+} -каналы: активируются высоким напряжением (большим сдвигом напряжения) на мембране, т. е. при низких значениях мембранного потенциала (положительнее -30 мВ);

— низкопороговые (LVA, *low voltage-activated*) Ca^{2+} -каналы: активируются низким напряжением (малым сдвигом напряжения) на мембране, т. е. при высоких значениях мембранного потенциала (отрицательнее -50 мВ).

Условное «нормативное» значение мембранного потенциала нейронов в состоянии покоя составляет -60 мВ (подробнее см. подразд. 2.2).

Кроме того, каналы могут различаться по своим одиночным характеристикам, кинетике активации и инактивации.

Поиск фармакологических препаратов, способных избирательно блокировать поток кальция через указанные каналы, привел к дальнейшему выделению их подтипов:

• **Ca^{2+} -каналы L-типа** ($Ca_v1.1-4$) — HVA-каналы, чувствительные к действию дигидропиридинов, относятся к «долгоиграющим» (*long lasting*) каналам, длительно находясь в открытом состоянии даже при значительном уровне деполяризации мембраны. Характерны как для нейронов, так и для мышечных клеток, включая кардиомиоциты;

• **Ca^{2+} -каналы P, Q и P/Q-типа** ($Ca_v2.1$) были выделены в ходе исследования фармакологических свойств HVA-каналов клеток Пуркинье мозжечка (P = Purkinje). Каналам этого типа требуется более 2 с для перехода в инактивированное состояние, что позволяет клеткам Пуркинье участво-

вать в интеграции синаптической активности на протяжении длительного периода времени;

- **Ca²⁺-каналы N-типа** (Ca_v2.2) – HVA-каналы, нечувствительные к действию дигидропиридинов (каналы не L-типа, *non-L-type*). Широко представлены в мембране пресинаптических участков преимущественно центральных синапсов;

- **Ca²⁺-каналы R-типа** (Ca_v2.3) (от *residual* – остаточный, так как сохраняют кальциевую проводимость в присутствии органических (токсины / фармакологические препараты) блокаторов всех других типов кальциевых каналов). По степени активации занимают промежуточное положение между низко- и высокопороговыми Ca²⁺-каналами. Они блокируются никелем в низких концентрациях;

- **Ca²⁺-каналам T-типа** (Ca_v3.1-3) (от *transient* – временный): LVA-каналы, переходящие в открытое состояние при высоких значениях мембранного потенциала, характеризующиеся быстрой инактивацией, сопровождающейся появлением малых (*tiny*), быстропроходящих (*transient*) токов и низкой проводимостью одиночного канала. Характерны для нейронов пачечного (взрывного) типа (*burst-type*) и пейсмейкеров. Экспрессия LVA-каналов характерна для многих областей мозга, включая нейроны коры, гиппокампа, таламуса и мозжечка.

Потенциал-зависимые Ca²⁺-каналы образованы пятью разными субъединицами: α₁, α₂, β, γ (найдена только в Ca²⁺-каналах скелетных мышц) и δ (рис. 112).

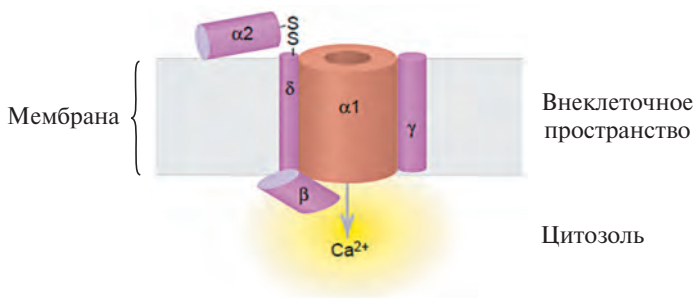


Рис. 112. Субъединичное строение потенциал-управляемого Ca²⁺-канала (по Spafford & Zamponi, 2003)

Установлено, что α₂- и δ-субъединицы при помощи S–S связей соединены в единый комплекс (α₂δ). В нервной системе млекопитающих комплекс из α₁, α₂δ и β образует Ca²⁺-канал. Высокопороговые кальциевые каналы всегда существуют в форме гетеротетрамеров.

При этом трансмембранная пора образована α_1 -субъединицей (190–250 кДа), сходной по своему строению с α -субъединицей Na^+ -канала: четыре домена с шестью трансмембранными сегментами в каждом, Р-петля между сегментами S5 и S6, а сегмент S4 в качестве сенсора напряжения (рис. 113).

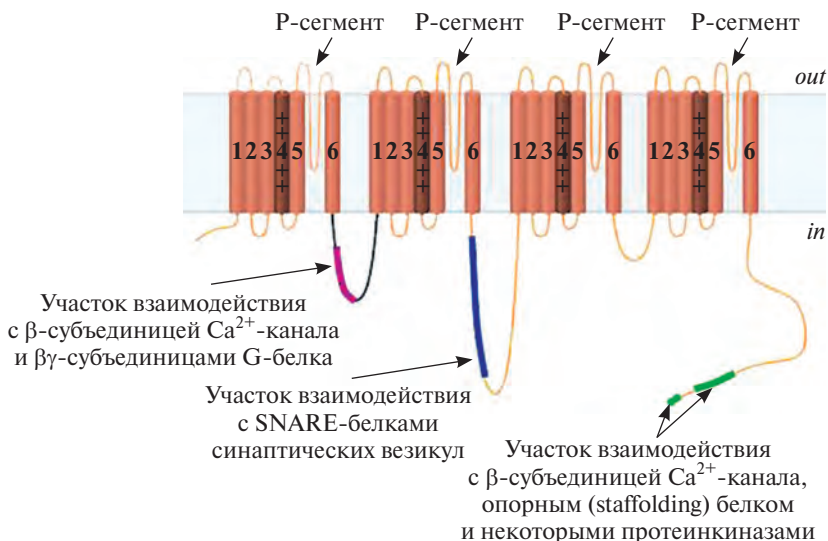


Рис. 113. Строение α -субъединицы потенциал-управляемого Ca^{2+} -канала (по Spafford & Zamponi, 2003)

За инактивацию Ca^{2+} -канала отвечает β -субъединица. К 2003 г. было известно по крайней мере десять генов, кодирующих α_1 субъединицу и четыре гена для β -субъединицы. На основании их гомологии Ca^{2+} -каналы можно разделить на три семейства (в пределах семейства гомология составляет 70 %, а между семействами – 40 %):

- L типа;
- P/Q, N и R типов;
- T типа.

Лиганд-управляемые Ca^{2+} -каналы, даже без учета «классических» представителей в виде NMDA или P2X рецепторов, отличаюся выраженным разнообразием. Это и рецепторы к инозитолтрифосфату (IP_3), расположенные на мембране митохондрий и эндоплазматического ретикулума, и рианодиновые рецепторы, отвечающие за выход кальция в системе Т-трубочек миоцитов, и двухпорные активируемые никотиновой кислотой аденин-динуклеотидфосфатом (Nicotinic Acid Adenine Dinucleotide Phosphate, NAADP) каналы эндосом и лизосом, и кальциевые каналы сперматозоидов (CatSper).

- Наиболее функционально значимые **Cl⁻-каналы** относятся к лиганд-управляемым каналам, представляя собой ионотропные рецепторы для таких нейромедиаторов, как ГАМК и глицин. Потенциал-управляемые каналы встречаются реже и изучены значительно хуже. Впервые они были выявлены в электрическом органе ската (*Torpedo*). Вероятность их открытия возрастает при деполяризации и закислении среды. Вовлечены в формирование мембранного потенциала и участвуют в поддержании объема клетки (Ca²⁺-активируемые хлорные каналы со слабой потенциал-зависимостью). Структура хлорных каналов отлична от других потенциал-управляемых ионных каналов и точно не установлена — он состоит из 13 гидрофобных доменов, 11 из которых расположены внутри мембраны. В плазмалемме канал для ионов хлора функционирует в форме димера, при этом каждая субъединица формирует собственный независимый канал (пору).

- **H⁺-каналы** обеспечивают перенос протонов во внеклеточную среду, нормализуя pH цитоплазмы и вызывая гиперполяризацию мембраны. Функционируют в виде димеров и в отличие от других потенциал-чувствительных каналов содержат 4 трансмембранных сегмента (S1–S4) без центральной водной поры. Широко представлены среди нейронов беспозвоночных.

- **Неселективные ионные каналы** были обнаружены в нервной ткани беспозвоночных и низших позвоночных. Обладают сильной потенциал-зависимостью, будучи хорошо проницаемыми для катионов (в том числе и двухвалентных, т. е. для Ca²⁺) и анионов. В ряде случаев их активность регулируется ионами кальция. Предполагается, что благодаря им происходит обновление внутриклеточного ионного состава. Это, в свою очередь, усиливает открытие других ионных каналов и позволяет нервным окончаниям оставаться деполяризованными при залповой активности нейрона.

Ионные каналы не только закладывают физическую основу электрической возбудимости мембраны, но также определяют протекание пре- и постсинаптических процессов.

2.1.6. КОНЦЕНТРАЦИЯ ИОНОВ ПО РАЗНЫЕ СТОРОНЫ МЕМБРАНЫ

Между клеткой и внеклеточным пространством постоянно происходит обмен веществ, основа которого обеспечивается транспортными (активными и пассивными) системами мембраны. В результате концентрация ионов внутри клетки разительно отличается от таковой в окружающей среде (табл. 3).

Таблица 3

**Концентрация ионов вне и внутри «типичной» клетки млекопитающего
(Э. Кэндел, 1980, с дополнениями)**

Ион	Внутри клетки, ммоль	Вне клетки, ммоль
Na ⁺	5–15	145
K ⁺	140–160	4–5
Ca ²⁺	10 ⁻⁴ –10 ⁻⁵	1–2
Mg ²⁺	0,5	1–2
H ⁺	7 × 10 ⁻⁵ (pH 7,2)	4 × 10 ⁻⁵ (pH 7,4)
Cl ⁻	5–15	110–120
Анионы ⁻	155	0

При анализе этих данных следует обратить внимание на ряд фактов.

Прежде всего это высокая концентрация K⁺ внутри клетки, а Na⁺ – вне клетки. Как показали работы А. Ходжкина и А. Хаксли (Hodgkin & Huxley, 1949–1952), именно неодинаковое распределение ионов калия по обе стороны мембраны нервной клетки дает потенциальную энергию для создания напряжения на мембране (см. подразд. 2.1), а благодаря ионам натрия становится возможной активная реакция клетки – потенциал действия (см. подразд. 2.2).

Во вторых, различие в концентрации ионов кальция составляет 10 тыс. (!) раз. Это связано с тем, что Ca²⁺ является важнейшим внутриклеточным регулятором и даже небольшие его количества, поступающие извне, кардинально изменяют его внутриклеточную концентрацию, а также течение большинства клеточных реакций.

Приведенные в табл. 3 значения внутриклеточной концентрации для Ca²⁺ и Mg²⁺ отражают их содержание в цитозоле. На самом деле внутри клетки находится около 20 ммоль Mg²⁺ и 1–2 ммоль Ca²⁺, но большинство из них связано с различными белками и хранится внутри различных органелл (митохондрии, ЭПР), так как не способно покидать клетку.

Высокая концентрация Na⁺ вне клетки уравнивается преимущественно за счет отрицательно заряженных ионов хлора. Внутриклеточная концентрация K⁺ сбалансирована благодаря целому спектру анионов: помимо Cl⁻, «нейтрализующих» небольшое количество положительно заряженных ионов Na, клетка содержит другие неорганические ионы (так называемые фиксированные анионы, неспособные покинуть клетку, переместившись через мембрану) – свободные бикарбонаты (HCO₃⁻) и фосфаты (PO₄³⁻), а также фосфатные и карбоксильные группы (COO⁻) в составе нуклеиновых кислот и белков. В результате обеспечивается относительная электрическая нейтральность вне- и внутриклеточного содержимого.

Не существует принципиальных различий в распределении ионов по разные стороны от мембраны, между клетками высших позвоночных и беспозвоночных (табл. 4). Это особенно важно, если учесть, что многие данные по физиологии нервных клеток, которые затем были распространены, в том числе и на нейроны человека, были получены, по крайней мере изначально, при использовании в качестве объекта исследований различных модельных организмов.

Таблица 4

**Концентрация ионов в гигантском аксоне и крови кальмара, морской воде
(Э. Кэндел, 1980)**

Ион	Аксоплазма, ммоль	Кровь, ммоль	Морская вода, ммоль
Na ⁺	50	440	460
K ⁺	400	20	10
Ca ²⁺	0,4	10	10
Mg ²⁺	10	54	53
Cl ⁻	40–150	560	540

Различия в концентрациях ионов по разные стороны от мембраны создают необходимые предпосылки для генерации и последующего распространения электрических импульсов, что лежит в основе нормального функционирования нервной системы.

2.2. ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ КЛЕТОК

Нервные клетки способны генерировать электрические сигналы в результате изменения ионных токов, протекающих через плазмалемму. В основе наблюдаемого явления лежит способность клетки в состоянии физиологического покоя поддерживать разность электрических потенциалов между обеими сторонами ее мембраны — **мембранный потенциал**, или **потенциал покоя**. Этот потенциал остается относительно постоянным в течение длительного времени в случае отсутствия какой-либо внешней активации нейрона. При этом внутреннее содержимое клетки заряжено отрицательно по отношению к окружающей среде (рис. 114).

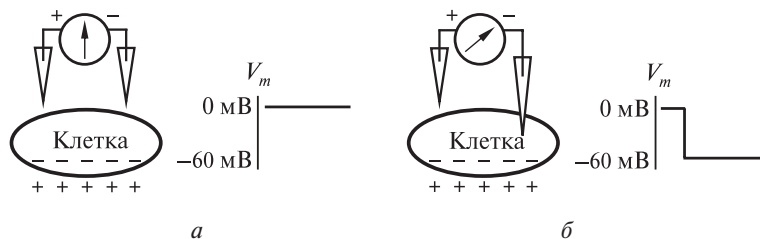


Рис. 114. Внутриклеточная регистрация мембранного потенциала:
а — микроэлектроды вне клетки (мембранный потенциал равен нулю);
б — один микроэлектрод оказывается внутри клетки (мембранный потенциал равен -60 mV)

Впервые прямое измерение потенциала покоя независимо осуществили А. Ходжкин и А. Хаксли (Hodgkin & Huxley, 1939), а также Х. Кертис и К. Коул (Curtis & Cole, 1942) для гигантского аксона кальмара (диаметром 1 мм). При этом заполненная солевым раствором (чтобы обеспечить электропроводность) стеклянная микропипетка (микроэлектрод) была введена в него с торца (второй микроэлектрод остался снаружи) (рис. 115).

В 1946 г. Дж. Грэхем и Р. Джерард (Graham & Gerard, 1946) разработали способ изготовления стеклянных микропипеток с диаметром кончика меньше 1 мкм (рис. 116). Исследователи получили возможность регистрировать электрическую

активность практически любых клеток, не причиняя им серьезных повреждений, вводя в них микроэлектрод напрямую. Заполненная раствором электролита микропипетка, обычно именуемая микроэлектродом, при помощи неполяризующихся металлических электродов (Ag/AgCl) соединяется с регистрирующим (вольтметр, амперметр) или стимулирующим (генератор) устройством.

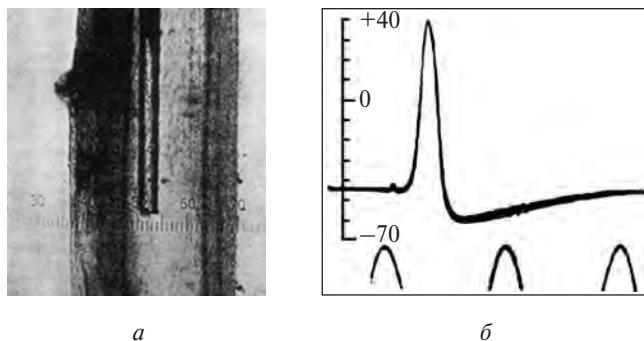


Рис. 115. Регистрация потенциала действия нервного волокна (по Hodgkin & Huxley, 1939)¹:
 а — фотография электрода внутри гигантского аксона кальмара (цена деления 33 мкм);
 б — потенциал действия гигантского аксона кальмара (отметка времени 2 мс, потенциал морской воды за пределами аксона принят за нуль)

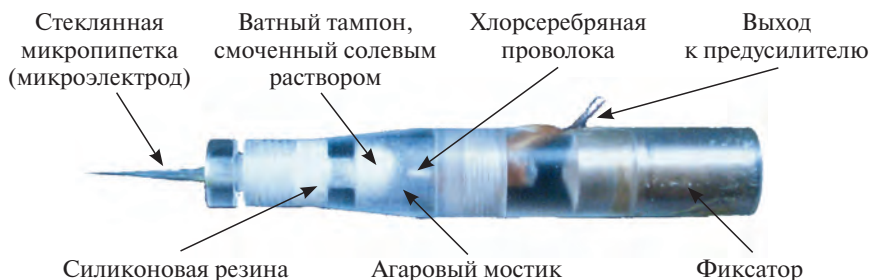


Рис. 116. Держатель с микропипеткой (микроэлектродом)

Величина мембранного потенциала в среднем составляет -60 мВ и различна для клеток разных типов тканей. Так, для нейронов обычный разброс значений может составлять от -40 до -70 мВ, для клеток поперечно-полосатой мускулатуры -90 , а для гладкомышечных клеток -30 мВ.

¹Hodgkin A. L., Huxley A. F. Action potentials recorded from inside a nerve fibre // Nature. 1939. Vol. 144. P. 710–711.

2.2.1. ТИПЫ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ

Внутри клетки одновременно можно поместить два и более микроэлектрода, что позволяет изучить реакции мембраны клеток в условиях прямого эксперимента. Если на внутриклеточный электрод подать положительный потенциал, а на внеклеточный отрицательный, то через мембрану наружу будет выходить ток.

За направление электрического тока условно принято считать движение положительно заряженных частиц, т. е. ток протекает от положительного полюса (электрода) к отрицательному.

Поляризация мембраны при этом заметно снизится, поскольку внутренность клетки станет менее электроотрицательной по отношению к наружной среде — произойдет *деполяризация*. Напротив, искусственное увеличение отрицательного потенциала на внутриклеточном и положительного потенциала на внеклеточном электродах заставляет ток входить внутрь клетки. Это увеличивает поляризацию мембраны, так как внутренность клетки становится более электроотрицательной по отношению к окружающей среде — происходит *гиперполяризация* (рис. 117).

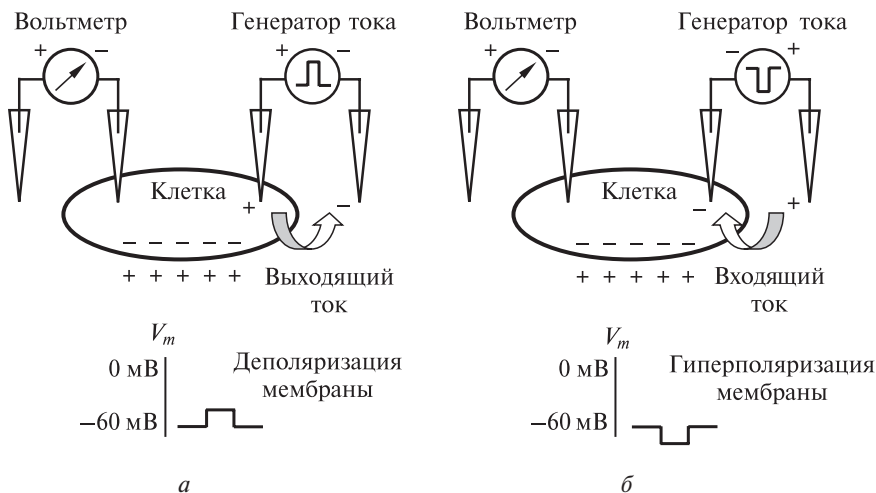


Рис. 117. Внутриклеточная стимуляция:

а — деполаризация клетки; б — гиперполяризация клетки.

Пара регистрирующих электродов соединена с вольтметром (регистрирует любые изменения мембранного потенциала), а пара стимулирующих электродов соединена с генератором тока (используется для пропускания тока через мембрану клетки)

Слабый толчок (прямоугольный импульс) входящего (гиперполяризующего) или выходящего (деполяризующего) тока вызывает небольшую гипер- (де-) поляризацию клетки, которая плавно уменьшается со временем и расстоянием. Эти малые вызываемые импульсом тока сдвиги мембранного потенциала называются **электротонном** (электротоническим потенциалом). Они распространяются пассивно, т. е. амплитуда исходного сигнала постепенно уменьшается по мере его распространения вдоль тела клетки. Повышение (снижение) амплитуды начального импульса тока приводит к пропорциональному увеличению (уменьшению) электротонического потенциала.

В случаях когда потенциал на мембране снижается до некоторой критической величины, например при увеличении выходящего тока, наблюдается кратковременная (1–10 мс) активная реакция клетки — **потенциал действия** (спайк), представляющая собой сдвиг мембранного потенциала в положительном направлении (рис. 118). Мембранный потенциал, при котором возникновение потенциала действия становится неизбежным, носит название **порогового**.

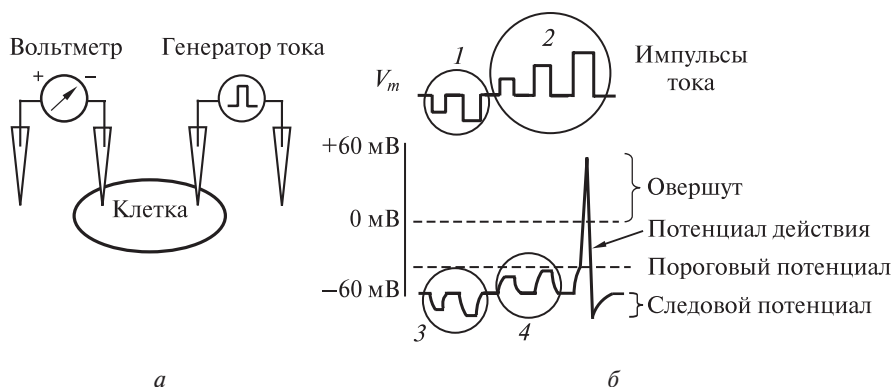


Рис. 118. Электротонические потенциалы и потенциал действия:

а — схема эксперимента; б — изменения мембранного потенциала;

1 — входящий ток; 2 — выходящий ток;

3 — гиперполяризация мембраны; 4 — деполяризация мембраны

В ходе развития потенциала действия потенциал на мембране не только падает до нуля, но и на короткий момент времени, на пике своего развития, становится положительным (+55 мВ). Реверсия (обращение) потенциала от 0 до +55 мВ называется «овершут» (*overshoot*). Как правило, возвращение к исходному состоянию покоя сопровождается незначительным (5–10 мВ) и непродолжительным увеличением поляризации клетки (гиперполяризационный **следовой потенциал** — *undershoot*).

Потенциал действия генерируется по принципу «все или ничего» — увеличение силы электрического стимула сверх пороговой не увеличивает амплитуду потенциала действия и не изменяет его формы. Потенциал действия распространяется активно — без потери амплитуды, вплоть до конечного участка выроста нервной клетки (аксона или дендрита), где под его влиянием инициируется синаптическая передача (подробнее о ее механизме см. подразд. 2.4). Характер электрических сигналов при пассивном и активном распространении представлен на рис. 119.

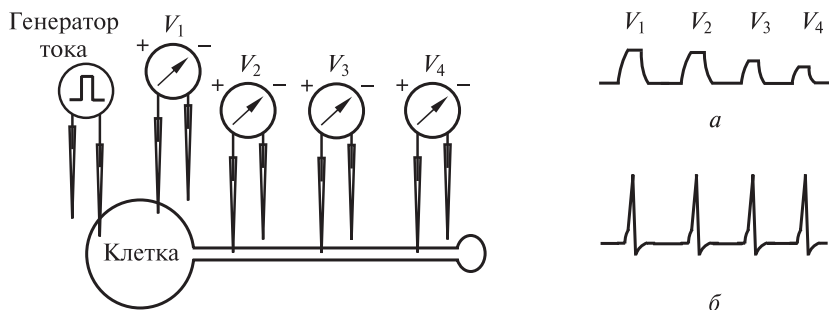


Рис. 119. Пассивное (а) и активное (б) распространение электрического сигнала.

Приведена схема опыта и характер изменения мембранного потенциала с изменением расстояния при пропускании через клетку подпорогового (а) или надпорогового (б) импульсов тока, вызывающих генерацию электротона или потенциал действия

Проблема угасания электротонического импульса при его проведении на значительные внутриклеточные расстояния решена за счет использования другого типа сигнала — потенциала действия (активное распространение). Исходный электротонический потенциал, достигая порогового уровня, вызывает развитие в соседнем участке мембраны потенциала действия, который, в свою очередь, становится источником нового электротонического потенциала, и т. д. Таким образом, потенциал действия распространяется не за счет энергии первоначального стимула (как это свойственно электротоническому потенциалу), а благодаря энергии, высвобождаемой по всей длине аксона или в области перехватов Ранвье, применительно к миелинизированным волокнам.

В постсинаптической клетке под влиянием пресинаптического нейрона возникают синаптические потенциалы двух типов: **возбуждающий и тормозный постсинаптические потенциалы** (ВПСП и ТПСП соответственно).

ВПСП приводит к появлению направленного наружу, через несинаптическую мембрану, деполяризующего тока, приближающего исходный мем-

бранный потенциал к пороговому уровню и, следовательно, к генерации потенциала действия. ТПСП, напротив, вызывает появление трансмембранного, входящего через несинаптическую мембрану гиперполяризующего тока. При этом мембранный потенциал клетки отдалется от порогового (рис. 120). Постсинаптические потенциалы распространяются внутри клетки электротонически. Реакция постсинаптических структур во многом определяется характером взаимодействия возбуждающих и тормозных постсинаптических потенциалов.

Амплитуда одиночного В(Т)ПСП в большинстве синапсов ЦНС часто менее 1 мВ, что на порядок меньше величины, на которую надо деполяризовать клетку для достижения порогового потенциала. Поэтому одиночный постсинаптический потенциал не в состоянии кардинально изменить мембранный потенциал постсинаптической клетки, а следовательно, и ее возбудимость.

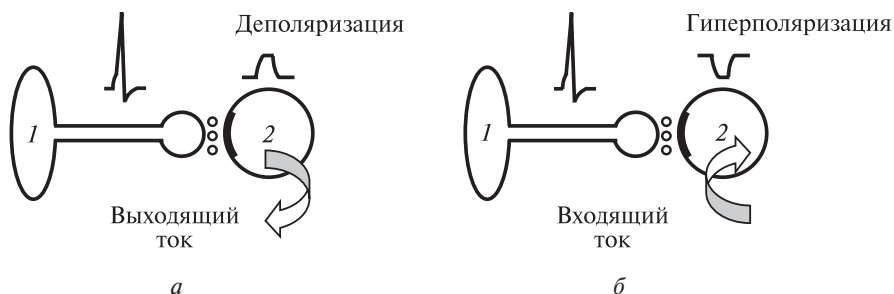


Рис. 120. Возбуждающий (а) и тормозный (б) постсинаптический потенциал:
1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка

Активное распространение имеет перед пассивным ряд преимуществ при передаче сигналов на большие расстояния:

- *благоприятное соотношение сигнал/шум.* Случайные низкоамплитудные шумы мембраны искажают слабые сигналы (электротонические импульсы) больше, чем сильные (высокоамплитудный потенциал действия);
- *гарантированная большая амплитуда сигнала.* В большинстве случаев для высвобождения нейромедиатора из пресинаптического окончания его нужно деполяризовать примерно на 25 мВ, что достигается при использовании потенциала действия, гарантированно приводящего к развитию электротонического потенциала нужной (свыше 25 мВ) амплитуды в пресинаптической области;
- *минимальные искажения высокочастотных компонент сигнала,* обусловленные потерями в ёмкости (см. далее).

2.2.2. ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН НЕЙРОНОВ

Пассивные (кабельные) свойства клетки обуславливают распространение электрических сигналов в пределах нейрона. Наиболее широко распространенной физической аналогией нейрона как электрической системы, позволяющей описать поведение любой из его частей в подпороговом диапазоне, является подводный кабель.

Указанная модель состоит из четырех пассивных электрических элементов:

- **малое сопротивление сердцевины кабеля** (цитоплазмы нейрона);
- **малое сопротивление океанской воды** (внеклеточной жидкости);
- **большое сопротивление изолирующей оболочки** (мембраны);
- **ёмкость изолирующей оболочки** (мембраны).

Сопротивление и ёмкость мембраны включены в электрическую цепь параллельно друг другу. Пассивные электрические свойства нейрона легко оценить, пропуская при помощи микроэлектродов через мембрану клетки де- (гипер-) поляризующие токи.

Электрические элементы называются пассивными, так как они не изменяют своих свойств при изменении подаваемого на них напряжения. Активные реакции, напротив, обусловлены изменением сопротивления мембраны.

Сопротивление (R). Представляет собой отношение изменения мембранного потенциала (ΔV_m) к току (I), протекающему через мембрану, выражается в омах (Ом) и характеризует ее способность препятствовать протеканию тока. Величина, обратная сопротивлению, наоборот, характеризует способность мембраны пропускать ток – проводимость (G). Понятно, что уменьшение сопротивления мембраны эквивалентно увеличению ее проводимости. Поскольку исходная схема опыта предусматривает протекание тока не только через мембрану, но и через цитоплазму нейрона, прежде чем он достигнет микроэлектрода, то логичнее говорить о суммарном входном сопротивлении (R_{input}), величина которого определяется законом Ома:

$$R_{input} = \frac{\Delta V_m}{I}.$$

В зависимости от геометрии и размеров клетки сопротивление мембраны колеблется в пределах от 10^5 до 10^8 Ом (чем меньше клетка, тем выше ее входное сопротивление). Входное сопротивление, по сути, обусловлено сопротивлением току со стороны мембраны, поскольку удельным сопротивлением цитоплазмы (R_i), равным ~ 50 Ом·см, можно пренебречь, как и внеклеточным сопротивлением (r_o). Мембранное сопротивление (R_m)

соответствует поперечному сопротивлению 1 см^2 мембраны и позволяет сравнивать свойства мембран у клеток различной формы, поскольку при измерении входного сопротивления геометрия и размеры нейрона не учитываются. Мембранное сопротивление нейронов моллюска равно $100\,000 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$, маутнеровских нейронов миноги — $16\,000 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$, пере-хватах Ранвье аксона лягушки — $20 \text{ Ом} \cdot \text{см}^2$.

Таким образом, сопротивление мембраны клетки определяется:

- **мембранным сопротивлением** (R_m), определяющим ее проницаемость для переносчиков электрического заряда (ионов);

- **суммарной площадью поверхности мембраны** — чем больше поверхность, тем ниже сопротивление, поскольку увеличивается количество параллельных путей для протекания тока через мембрану.

Ёмкость (C). Представляет количественную меру, характеризующую способность мембраны удерживать электрический заряд. Поэтому ёмкость — это элемент электрической цепи, оказывающий сопротивление любым изменениям потенциала. Ток течет в ёмкость или из ёмкости только при изменении напряжения на ней и до тех пор, пока она не зарядится до потенциала, равного подаваемому на нее. Толчки тока, подаваемые на мембрану, можно заставить нарастать и спадать очень быстро, но мембранный потенциал за счет ёмкости будет изменяться медленно (см. рис. 118). Ёмкость не препятствует изменению потенциала на мембране, а лишь замедляет его повышение или снижение.

Ёмкость состоит из двух проводников (цитоплазмы и внеклеточной жидкости), разделенных изолятором (белково-липидной мембраной). Благодаря ёмкостным свойствам клетки могут накапливать заряды. Изменение мембранного потенциала вызывает возникновение на внутренней и внешней сторонах мембраны заряда, пропорционального ΔV_m . Таким образом, *входная ёмкость мембраны* (C_{input}) определяется как отношение заряда (в кулонах), возникшего на каждой стороне мембраны, к изменению мембранного потенциала, измеряется в фарадах ($1 \text{ Ф} = 1 \text{ кулон} \times \times 1 \text{ вольт}^{-1}$):

$$C_{input} = \frac{q}{\Delta V_m}.$$

Ёмкость прямо пропорциональна площади поверхности и обратно пропорциональна толщине мембраны. Первое утверждение объясняется тем, что увеличение площади наружного и внутреннего проводников (внеклеточной жидкости и аксоплазмы соответственно) позволяет мембране удерживать больший заряд. В свою очередь, большая толщина мембраны уменьшает взаимодействие зарядов, удерживаемых на ее внешней и внутренней поверхностях. Поскольку толщина клеточной мембраны

примерно одинакова для всех клеток (7,5 нм), то *мембранная ёмкость* (C_m) зависит прежде всего от площади поверхности и рассчитывается на 1 см² поверхности мембраны.

Вольт-амперная характеристика. Позволяет выяснить, является ли входное сопротивление клетки полностью пассивным или оно все же зависит от мембранного потенциала, т. е. демонстрирует активные свойства. На практике это можно установить, пропуская постепенно нарастающие толчки де- или гиперполяризующего тока через мембрану. У некоторых нейронов и большинства невозбудимых клеток отношение $\Delta V_m / \Delta I$ постоянно, т. е. R_{input} (определяемое по наклону вольт-амперной характеристики) постоянно в подпороговой области и не зависит от мембранного потенциала — это и есть *линейная* вольт-амперная характеристика.

У большинства нервных клеток входное сопротивление ведет себя нелинейно, что означает меньшее сопротивление мембраны току, текущему в определенном направлении (рис. 121).

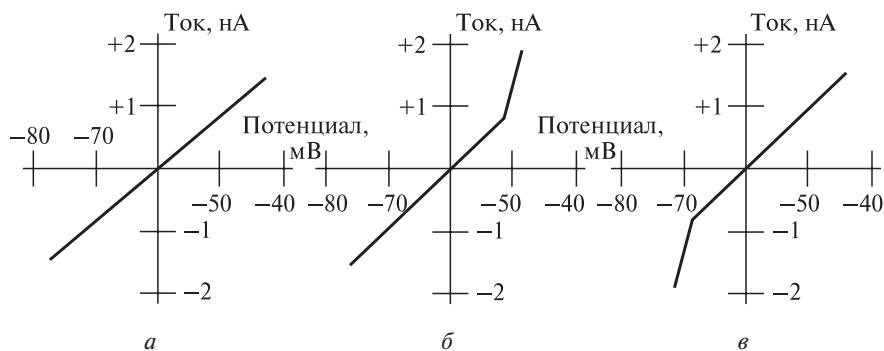


Рис. 121. Вольт-амперные характеристики мембраны:
а — линейная характеристика; б — задержанное выпрямление;
в — аномальное выпрямление

Асимметрия мембранного сопротивления (выпрямление) бывает двух видов:

- *задержанное выпрямление* — наблюдается при деполяризации мембраны, когда после первоначального скачка в результате отстающего по времени снижения сопротивления мембранный потенциал уменьшается. При этом мембрана оказывает меньшее сопротивление выходящему (деполяризующему) току. Для большинства нервных клеток эффект задержанного выпрямления наблюдается вблизи и выше порога потенциала действия, поскольку способствует развитию последнего;

- *аномальное выпрямление* — наблюдается при гиперполяризации мембраны, выражаясь в меньшем сопротивлении входящему (гиперполяризую-

ющему) току. Встречается реже, чем задержанное, способствуя торможению активности нейронов.

Когда на мембрану подается толчок тока, он сначала протекает по мембранной ёмкости, изменяя заряд на ней, — это *ёмкостной ток* (I_C). Затем по мере зарядки ёмкости ток начинает течь через сопротивление мембраны — это ток сопротивления, или ионный ток (I_R).

Общий ток, протекающий через мембрану, $I_m = I_R + I_C$ и определяется уравнением

$$I_m = \frac{\Delta V_m}{R_m} + C_m \frac{dV_m}{dt},$$

где ток сопротивления $I_R = \Delta V_m / R_m$, а ёмкостной ток равен скорости изменения заряда, т. е. $I_m = dq/dt$, и поскольку $q = C_m \cdot V_m$, то величина ёмкостного тока определяется величиной мембранной ёмкости (C_m) и скоростью изменения напряжения (dV_m/dt), т. е. $I_C = C_m \frac{dV_m}{dt}$.

У большинства нервных клеток мембрана сомы и дендритов либо не способна генерировать потенциал действия, либо имеет очень высокий порог, а участки постсинаптических мембран и вовсе электрически невозбудимы. При этом область синапса может быть удалена на значительное (несколько миллиметров) расстояние от *аксонного холмика* (зоны повышенной возбудимости нейрона и места генерации потенциала действия). Именно пассивными свойствами мембраны определяется возможность синаптических потенциалов достигать зоны генерации и вызывать возникновение потенциала действия. Временной ход и пространственное распределение В(Т)ПСП в пределах нейрона определяют *постоянные времени и длины*.

Постоянная времени мембраны (τ_m). Характеризует скорость, с которой мембранный потенциал меняется при переходе от одного значения к другому (рис. 122).

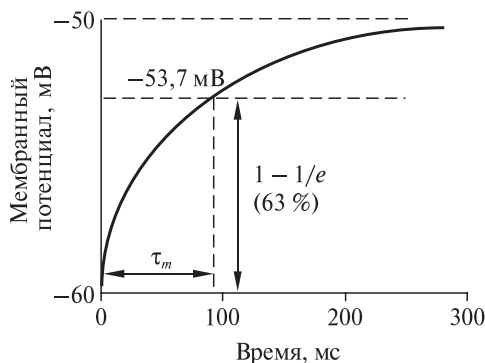
Экспоненциальные кривые, отражающие изменения электротонических потенциалов со временем, описываются уравнениями: $V = V_0 e^{-t/\tau}$ при переходе от большего значения к меньшему (разрядка мембраны), и $V = V_0 (1 - e^{-t/\tau})$ при переходе от меньшего значения к большему (зарядка мембраны), где V — текущее, V_0 — исходное значение показателя, а τ — постоянная времени, т. е. такое значение времени, при котором показатель степени равен -1 ($t = \tau$) с учетом, что $e^{-1} = 1/e$ и $e = 2,718$.

В самом начале скорость нарастания электротонического потенциала определяется только ёмкостью мембраны, а его конечная амплитуда пропорциональна сопротивлению мембраны. Потенциал при этом меняется экспоненциально. Постоянная времени — это время, необходимое для того, чтобы импульс постоянного тока зарядил ёмкость мембраны на 63 %, точ-

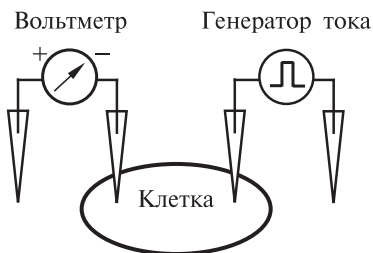
нее, довел заряд до $1 - 1/e$ от его конечного значения (или время, за которое амплитуда исходного импульса падает до 37 %, т. е. $1/e$). Для клетки сферической формы значение постоянной времени определяется уравнением

$$\tau_m = R_m \cdot C_m,$$

где R_m — сопротивление; C_m — ёмкость мембраны. Величина τ_m в разных клетках составляет от 1 до 100 мс.



a



б

Рис. 122. Постоянная времени:

a — изменение мембранного потенциала в зависимости от времени, прошедшего после импульса постоянного тока; *б* — схема эксперимента

С увеличением расстояния (в клетках вытянутой формы) наблюдается снижение скорости нарастания (спада) изменений мембранного потенциала.

Постоянная длины мембраны (λ_m). Характеризует скорость, с которой мембранный потенциал при переходе от одного значения к другому изменяется с расстоянием (рис. 123).

Чем дальше от места пропускания тока находится участок аксона, тем больше пройдет времени, прежде чем в этом месте появится ток, и тем медленнее будет там изменяться мембранный потенциал. Это является следствием того, что для зарядки мембранной ёмкости необходимо время. Сначала ёмкость заряжается в участке около источника тока (внутриклеточного микроэлектродов), а только потом ток проходит дальше внутрь клетки, содержимое которой имеет значительное удельное сопротивление, к более удаленным участкам мембраны. В результате меньший ток должен заряжать большие по площади отдаленные области мембраны. Следствием этого будет снижение скорости зарядки, поэтому скорость изменения мембранного потенциала уменьшится.

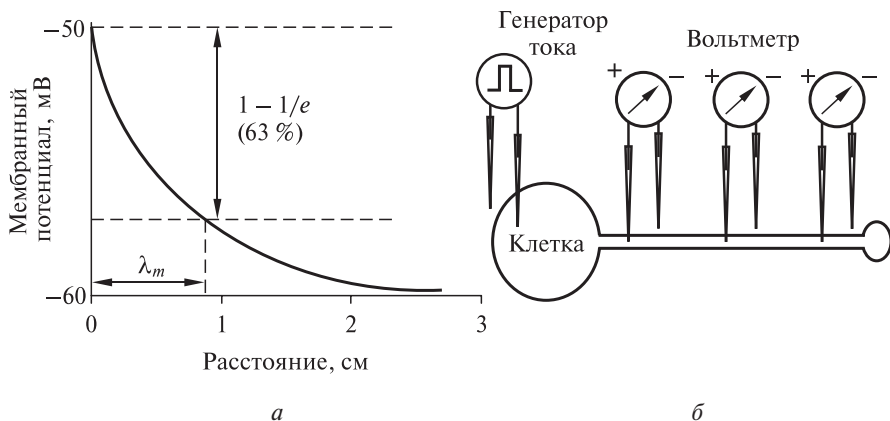


Рис. 123. Постоянная длины:

а — изменение мембранного потенциала в зависимости от расстояния;
б — схема эксперимента

Постоянная длины — это расстояние вдоль отростка клетки, на котором напряжение, приложенное к исходной точке на теле клетки (импульс тока), потеряет 63 %, точнее $1 - 1/e$, своей первоначальной величины (или расстояние, на котором амплитуда исходного импульса падает до 37 %, т. е. $1/e$). Величина λ является мерой расстояния, на которое электротонически распространяются подпороговые сигналы. Она колеблется от 0,1 до 5 мм, достигая для гигантских аксонов кальмара нескольких сантиметров.

На расстоянии 4λ амплитуда сигнала составляет лишь 2 % от его исходной величины.

Значение постоянной длины определяется уравнением

$$\lambda_m = \frac{1}{2} \sqrt{\frac{D \cdot R_m}{R_i}},$$

где D — диаметр отростка.

Затухание сигнала происходит вследствие увеличения продольного сопротивления аксоплазмы с расстоянием, а также за счет того, что часть тока выходит через мембрану по всей длине аксона во внеклеточную среду, обладающую низким сопротивлением (т. е. мембрана не абсолютно электрически изолирует внутриклеточное содержимое).

Электротоническое распространение тока наравне с собственно амплитудой исходного импульса определяет скорость проведения сигнала по нервному волокну. Принимая во внимание, что R_m и C_m примерно одинаковы в большинстве возбудимых тканей, именно диаметр нервного волокна определяет характер электротона. При увеличении диаметра волокна

продольное сопротивление аксоплазмы, пропорциональное квадрату радиуса, снижается относительно сопротивления мембраны, уменьшение которого пропорционально лишь удвоенному радиусу (диаметру). В результате увеличивается λ_m , электротонические токи распространяются на большие расстояния и возрастает скорость их проведения.

С увеличением диаметра волокна увеличивается площадь мембраны и, как следствие, возрастает (пропорционально удвоенному радиусу) ее ёмкость, что уменьшает скорость проведения. Однако эффект снижения продольного сопротивления все же преобладает.

В покрытых миелином нервных волокнах, в которых только очень короткие участки (перехваты Ранвье) лишены миелина, складывается следующая ситуация. Миелин значительно увеличивает сопротивление мембраны, а также снижает ее ёмкость на единицу длины. В результате электротонические потенциалы распространяются через межперехватные участки практически без потери амплитуды (возрастает λ_m) и почти мгновенно. Возбуждение «перескакивает» от одного перехвата Ранвье к другому (*сальтаторное проведение*). В результате задержка в проведении возбуждения происходит только в перехватах, как и генерация нервного импульса. Скорость проведения нервного импульса в миелинизированных волокнах также зависит от их диаметра, но прямо пропорциональна ему (а не $\sqrt{D}$, как в случае немиелинизированного волокна), вследствие того, что расстояние между перехватами Ранвье тем больше, чем толще волокно.

В безмякотных волокнах фактически любой участок плазмалеммы, примыкающий к месту возникновения начального нервного импульса, становится источником его новой генерации (в противном случае сигнал угаснет из-за потерь, связанных с сопротивлением аксоплазмы и плазмалеммы аксона), а формирование потенциала действия требует временных затрат, снижая итоговую скорость проведения нервного импульса.

В электротехнике проблема затухания сигнала решена за счет вставки в кабель через определенные интервалы специальных усилителей.

Очевидно, что число таких участков на единицу длины аксона больше, нежели перехватов Ранвье, разделенных промежутком в ~ 100 мкм, а следовательно, и временные потери, связанные с возникновением нервных импульсов и приводящие к задержке передачи возбуждения, выше. В результате скорость проведения возбуждения в миелинизированном волокне намного выше, чем в немиелинизированном того же диаметра, за исключением очень мелких волокон.

При очень малых диаметрах волокон (менее 1 мкм) миелинизированные волокна (скорость проведения в которых $\sim D$ нерва) проводят импульсы медленнее немиелинизированных (скорость проведения у них $\sim \sqrt{D}$ нерва) — для чисел

меньше единицы, т. е. при диаметре меньше определенной величины значение их квадратного корня будет выше (например, для 0,6 значение $\sqrt{0,6} = 0,77$). Как следствие, миелинизированные волокна с диаметром меньше 1 мкм не встречаются у представителей животного мира (диаметр самых крупных и «быстрых» немиелинизированных С-волокон составляет 1,1 мкм).

В результате существует две базовые стратегии увеличения скорости передачи электрических сигналов нейронами — образование миелиновой оболочки (позвоночные) и увеличение диаметра нервного волокна, связанные с формированием гигантских аксонов (беспозвоночные).

Было подсчитано, что при условии отсутствия миелиновой оболочки, окружающей волокна в зрительном нерве человека, для проведения нервного импульса с той же скоростью его толщина за счет роста диаметра аксонов должна была бы составить 30 см (!) вместо имеющихся 3 мм.

Примечательно, но самая высокая из измеренных скоростей передачи нервного импульса отмечена для *Marsupenaeus japonicus* (японской тигровой креветки) — до 200 м/с (при максимальной скорости в 100–120 м/с для миелинизированных волокон млекопитающих), аксоны которой окружены миелинподобной оболочкой.

2.2.3. МИЕЛИНОВАЯ ОБОЛОЧКА ОТРОСТКОВ НЕЙРОНА

Длинные отростки нервных клеток (аксоны) заключены в липопротеидную (миелиновую) оболочку, обладающую высоким электрическим сопротивлением и способствующую электрической изоляции аксонов друг от друга. Обычно эта оболочка начинается, с небольшим отступлением, вблизи тела нейрона и заканчивается на расстоянии в 1–2 мкм от расширенного синаптического окончания отростка.

В центральной нервной системе **миелин** (его первое описание было дано Р. Вирховым в 1854 г.) образуется клетками олигодендроглии, а в периферической — шванновскими клетками. Химическая природа миелина периферической и центральной нервной системы несколько различна. Сухая масса миелина составляет 60 % от его общего веса, а оставшаяся часть (около 40 %) приходится на долю воды. В сухом веществе превалируют липиды (60–75 %), придающие ему светлую окраску, что, в свою очередь, позволило именовать участки мозга, содержащие большое число покрытых миелином отростков нервных клеток, **белым веществом**. Оставшаяся часть приходится на долю белка (15–25 %). Основу липидного компонента составляет галактоцереброзид, а также придающий миелиновой оболочке прочность сфингомиелин, с его вплетающимися углеводными цепями, и холестерол, необходимый для образования миелина. Белковая составля-

ющая представлена основным белком миелина (*myelin basic protein*, MBP), гликопротеином миелина олигодендроцитов (*myelin oligodendrocyte protein*, MOG), протеолипидным белком (*proteolipid protein*, PLP) и нулевым белком миелина (*myelin protein zero*, MPZ или P0). Белковые компоненты миелиновой оболочки формируют переплетающуюся сеть фибрилл, создавая ее опорный каркас.

В разных участках нервной системы (центральной либо периферической) в состав миелиновой оболочки включаются различные белки. В частности, MOG является специфическим компонентом ЦНС, равно как и PLP, обнаруживаемый в составе миелина периферической нервной системы лишь в незначительных количествах, где он замещен MPZ.

Миелиновая оболочка аксона не является сплошной, простирающейся на всю длину нервного волокна. Она прерывается промежутками, называемыми **перехватами Ранвье**, существующими как в центральной, так и периферической нервной системе, будучи равномерно расположенными по ходу аксона (рис. 124).

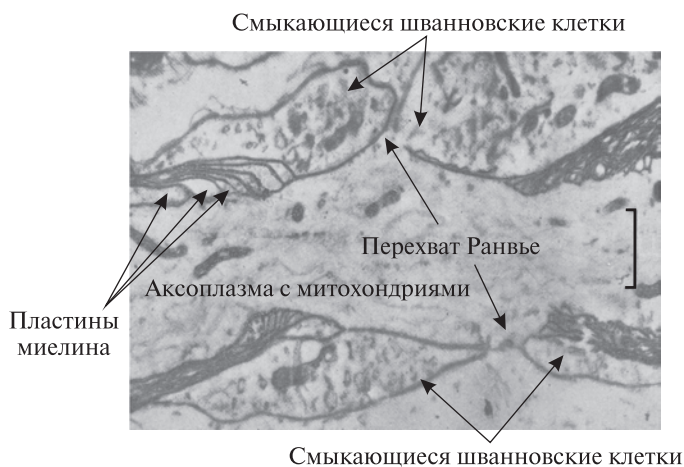


Рис. 124. Электронно-микроскопическая фотография перехвата Ранвье (по Шаде и Форду, 1976).

Размер калибровочной метки
(на фотографии справа) — 1 мкм

В случае ветвления отростка отхождение от него отдельных ветвей обычно приходится на место перехвата Ранвье, соответствующее месту смыкания двух шванновских клеток, образующих миелиновую оболочку аксонов периферической нервной системы.

Отдельные шванновские клетки покрывают примерно 100 мкм длины аксона. Несложно подсчитать, что в случае его длины в 1 м, как, например, в отношении блуждающего нерва человека, общее число шванновских клеток, окружающих отросток нейрона, составит около 10 тыс.

Размеры перехвата Ранвье могут варьировать от 0,5 мкм у толстых (10–15 мкм в диаметре) до 2,5 мкм у тонких (3–10 мкм в диаметре) нервных волокон. В местах окончания миелиновой оболочки крупных аксонов отмечается небольшое, примерно на треть диаметра, сужение нейрита. Напротив, в центральных участках перехвата Ранвье диаметр аксона несколько увеличен по сравнению с миелинизированными участками. Следует понимать, что в области перехвата мембрана нейрона полностью не обнажена. Ее окружают пальцевидные выпячивания (отростки), образуемые сходящимися мембранами шванновских клеток, оставляющие тем не менее щелевидные участки пространства между собой и поверхностью аксона. Для перехватов Ранвье центральной нервной системы характерно присутствие контактирующих с аксоном отростков астроцитов.

В свое время было высказано предположение, что натриевые каналы, которыми чрезвычайно насыщены перехваты Ранвье, переносятся к ним от астроцитов (Shrager *et al.*, 1985).

За формирование миелиновой оболочки нервных волокон периферической нервной системы отвечают шванновские клетки путем многократного обертывания их отростков вокруг аксона. Содержащаяся в отростках шванновских клеток цитоплазма почти полностью выдавливается из них в ходе такого обертывания (рис. 125).

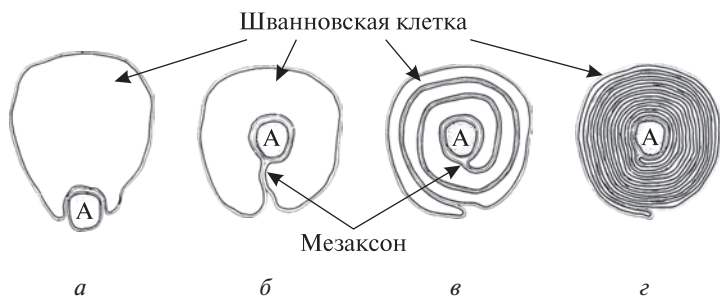


Рис. 125. Схема образования миелиновой оболочки (а–г) вокруг аксона (А) (по Шаде и Форду, 1976)

В результате все цитоплазматические компоненты (органеллы) сосредоточены вблизи ядра шванновской клетки, занимающего периферическое положения, а также в дистальных и проксимальных участках пластин мие-

лина. В процессе обертывания может формироваться более 100 (в крупных волокнах до 300) спиральных слоев, образующих пластинчатую структуру нормального миелина. При этом каждая последующая пластинка перекрывает предыдущую дистально и проксимально, т. е. по толщине и длине отростка, как это отчетливо видно в местах контакта соседних шванновских клеток в области перехватов Ранвье (см. рис. 124, 125).

Зоны разрешения наслоений (расхождение пластин) миелина, в которых миелиновые пластины как бы «отклеились» друг от друга и разошлись в стороны, называются насечками миелина или насечками Шмидта — Лантермана. Они хорошо заметны в виде тонких косых полос при анализе продольных срезов периферических нервов, но не встречаются в покрытых миелином отростках нейронов центральной нервной системы. Формируемые при этом «карманы» цитоплазмы используются как коммуникационные пути между слоями миелина, служат депо Ca^{2+} , играют трофическую роль (рис. 126).

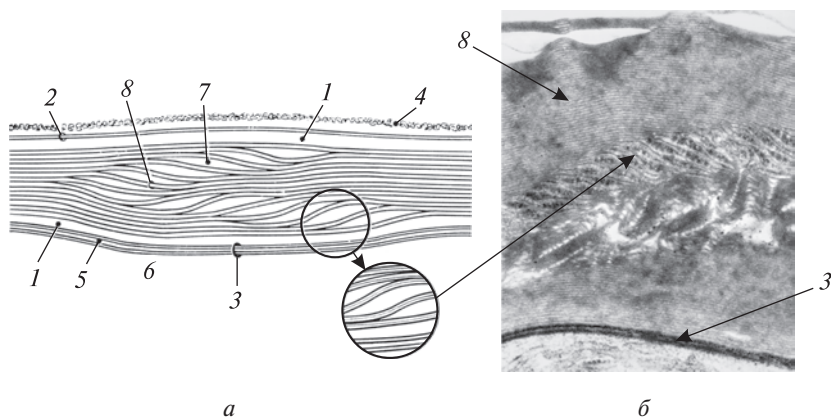


Рис. 126. Схема строения (а) и микрофотография насечки Шмидта — Лантермана (а — по Шаде и Форду, 1976; б — по Spasek, 2018):

- 1 — цитоплазма шванновской клетки; 2 — мембрана шванновской клетки;
- 3 — мембрана аксона с примыкающей к ней мембраной шванновской клетки;
- 4 — базальная мембрана; 5 — промежуток между мембранами аксона и шванновской клетки; 6 — аксоплазма; 7 — щель между пластинами миелина;
- 8 — пластинка миелина

Не исключено, что в ряде описываемых случаев различные «дефекты» миелиновой оболочки (насечки миелина) представляют собой просто артефакт приготовления препарата нерва. В частности, было обнаружено, что при значительном растяжении нервов насечки не образуются, а использование для выделения нервов солевых растворов приводит к увеличению числа таких структур в препаратах волокон (Robertson, 1958).

2.2.4. НЕЙРОННАЯ ИНТЕГРАЦИЯ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ СИНАПСОВ

Нервная клетка суммирует различные подпороговые сигналы, возникающие на ее мембране. Этот процесс подчиняется законам электро-тонического распространения потенциалов и определяется пассивными свойствами мембраны нейрона. В результате «принимается решение» — генерировать или нет потенциал действия, т. е. будут развиваться в данной клетке процессы возбуждения или торможения? Аксоны пресинаптических окончаний конвергируют на постсинаптической клетке. В зависимости от характера их взаимодействия различают временную и пространственную суммацию.

Временная суммация. Длительность синаптического тока крайне мала по сравнению с постоянной времени постсинаптической клетки (рис. 127, *а*). За счет ёмкостных свойств ее мембраны, замедляющих изменение потенциала, синаптические потенциалы возрастают (падают) медленнее, чем синаптический ток. Как следствие, второй импульс в пресинаптическом нейроне, возникающий непосредственно за первым, вызывает новый синаптический ток еще до завершения разрядки мембранной ёмкости постсинаптической клетки от предыдущего синаптического потенциала.

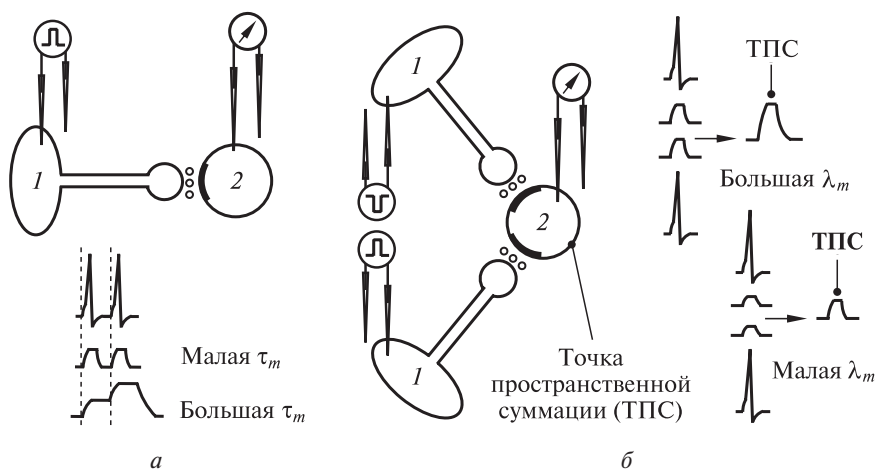


Рис. 127. Временная (*а*) и пространственная (*б*) суммация.

Приведена схема опыта и характер изменения мембранного потенциала постсинаптической клетки в ответ на последовательное (*а*) или одновременное (*б*) возникновение потенциала действия в пресинаптической клетке (клетках): 1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка

В результате новая де- (гипер-) поляризация суммируется с остаточной, т. е. складываются последовательные синаптические воздействия, производимые в одном месте, — это и есть *временная суммация* (рис. 128). Таким образом, она напрямую зависит от постоянной времени мембраны, а нейроны с большей τ_m обладают большей способностью к временной суммации.

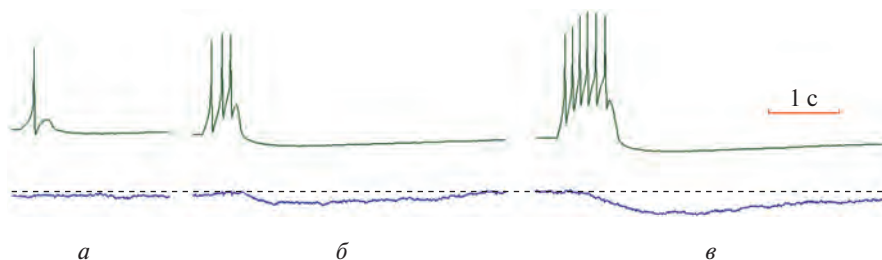


Рис. 128. Временная суммация

в идентифицированных синапсах *Lymnaea stagnalis*.

С увеличением числа импульсов в пресинаптическом нейроне (от а к в) возрастает амплитуда тормозного постсинаптического потенциала.

Верхняя линия записи — дофаминсодержащий нейрон RPeD1, нижняя — моносинаптически с ним связанная клетка VD4 (содержит ацетилхолин и FMRF-амид). Пунктирная линия дана для наглядности изменения мембранного потенциала

Пространственная суммация. Величина одиночного постсинаптического потенциала электротонически снижается при удалении от области синапса и не достаточна для возбуждения потенциала действия в зоне генерации (рис. 127, б).

Для этого требуется одновременное совместное действие нескольких синаптических входов. В результате эффекты нескольких пространственно разделенных синапсов складываются — это и есть *пространственная суммация*. Она в первую очередь зависит от постоянной длины мембраны: чем больше λ_m , тем более отдаленные от аксонного холмика постсинаптические зоны могут принять участие в результирующей генерации потенциала действия.

Многие нейроны, особенно у беспозвоночных, имеют по несколько зон генерации. В этом случае каждая из них суммирует действия, производимые ближайшими синапсами, а разряд такой локальной зоны ведет к разряду общей зоны генерации в начальном сегменте аксона (аксонном холмике).

Возбуждающие и тормозные синапсы располагаются на теле клетки неравномерно. Первые преимущественно сконцентрированы на дендритах, тогда как вторые особенно многочисленны на соме нейрона в районе аксонного холмика, т. е. способны оказать более сильное влияние на процессы нейронной интеграции.

2.3. ИОННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ

2.3.1. МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ

В покое плазматическая мембрана относительно легко проницаема для ионов калия. В результате переноса K^+ на наружной стороне мембраны будет накапливаться положительный заряд. Соответственно, внутренняя сторона становится более электроотрицательной. Это возможно вследствие того, что органические анионы, в норме уравнивающие ионы калия для сохранения общей электронейтральности внутри клетки, не способны свободно перемещаться через мембрану. Таким образом, неравномерное распределение (разделение) зарядов по разные стороны от мембраны ведет к появлению разности потенциалов (рис. 129). Чем больше ионов калия покинет клетку под действием концентрационного градиента, тем более выраженным станет разделение зарядов и тем больше будет разность потенциалов.

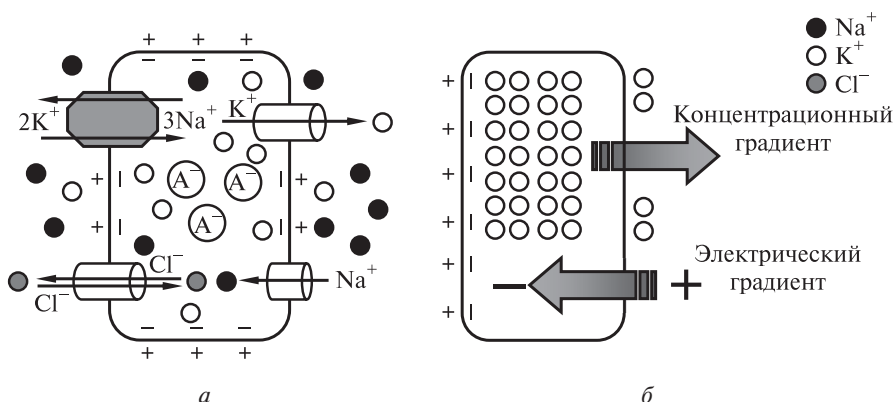


Рис. 129. Распределение ионов по разные стороны плазмалеммы с указанием направления путей их переноса через мембрану (а) и градиенты, опосредующие потоки ионов калия (б)

Создающийся на внутренней стороне мембраны отрицательный заряд препятствует (разноименные заряды притягиваются друг к другу) дальнейшему выходу K^+ из клетки по градиенту концентрации, т. е. действие электрических сил уравнивает действие химических сил. В результате устанавливается состояние равновесия, при котором количество ионов калия, покидающих клетку по концентрационному градиенту, равно их количеству, поступающему в клетку за счет сил электростатического притяжения.

Количественной характеристикой состояния равновесия является **потенциал равновесия**, определяемый согласно уравнению Нернста как

$$E_{ion} = \frac{RT}{F} \ln \frac{[ion]_o}{[ion]_i},$$

где F — постоянная Фарадея; R — газовая постоянная; T — абсолютная температура; $[ion]_o$ и $[ion]_i$ вне- и внутриклеточная концентрация иона соответственно.

Применительно к гигантскому аксону кальмара (см. табл. 4) значение калиевого равновесного потенциала составляет

$$E_K = \frac{RT}{F} \ln \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} = 2,3 \frac{RT}{F} \log \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} = 58 \log \frac{[K^+]_o}{[K^+]_i} = 58 \log \frac{20}{400} = -75 \text{ mV}$$

при условии, что $\ln = 2,3 \cdot \log$, а при 18°C (291 K) отношение $RT/F = 25$.

Наблюдаемое значение мембранного потенциала в гигантском волокне составляет -60 mV , что достаточно близко к теоретически рассчитанному. Различия обусловлены некоторой проницаемостью клеточной мембраны и для других (помимо K^+) ионов, прежде всего Na^+ . В результате поступления небольших количеств положительно заряженных ионов натрия внутрь клетки часть отрицательного заряда на внутренней стороне мембраны уничтожается и величина мембранного потенциала снижается.

Указанные отклонения учтены в уравнении Гольдмана, основанного на допущении, что внутри мембраны градиент потенциала и напряженность электрического поля постоянны. В уравнении учтены концентрации трех главных ионов малого радиуса и относительные проницаемости (P) для них:

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_K [K^+]_o + P_{Na} [Na^+]_o + P_{Cl} [Cl^-]_i}{P_K [K^+]_i + P_{Na} [Na^+]_i + P_{Cl} [Cl^-]_o}.$$

А. Ходжкин и Б. Катц (Hodgkin & Katz, 1949) установили, что для гигантского аксона кальмара $P_K : P_{Na} : P_{Cl}$ соотносятся как $1 : 0,04 : 0,45$.

Таким образом, мембранный потенциал в первом приближении определяется градиентом концентрации ионов калия. Согласно уравнению

Нернста мембранный потенциал изменяется обратно пропорционально внеклеточной концентрации калия — с ее увеличением клетка претерпевает сильную деполяризацию (рис. 130). Увеличение $[K^+]_o$ наблюдается при усиленной электрической активности нейронов и способно вызывать значительные изменения возбудимости клеток, окружающих очаг активности.



Рис. 130. Зависимость мембранного потенциала от внеклеточной концентрации K^+

Оценки проницаемостей показали, что ионы хлора также способны легко пересекать плазмалемму. Тем не менее они не вносят существенного вклада в мембранный потенциал. Вне- и внутриклеточные концентрации калия и хлора соотносятся противоположным образом: $[Cl^-]_i/[Cl^-]_o = 1/16$, а $[K^+]_i/[K^+]_o = 20$. Рассчитанный равновесный потенциал для хлора (E_{Cl}) составляет около -75 мВ, т. е. соответствует E_K . В результате создается взаимно противоположное распределение K^+ и Cl^- по разные стороны мембраны. Однако на распределение ионов хлора не накладывается никаких пространственных ограничений. Они легко перемещаются в клетку или из клетки и распределяются в соответствии с мембранным потенциалом, заданным K^+ . Последний препятствует проникновению внутрь клетки отрицательно заряженных ионов хлора, стремящихся в клетку по направлению концентрационного градиента.

Фиксированные анионы внутри клетки не могут пересечь плазмалемму вслед за уравнивающими их ионами калия. В результате концентрация K^+ поддерживается относительно постоянной внутри клетки.

Таким образом, градиент концентрации ионов хлора подстраивается под градиент ионов калия и является обратным последнему.

Создание потенциала на мембране клетки не является имманентным свойством только живых организмов. Разности потенциалов можно достичь, разделив растворы соли разной концентрации мембраной, имеющей неодинаковую проницаемость для аниона и катиона, на которые диссоциирует соль. Возникающее при этом *доннановское равновесие* характеризует неравномерное распределение диффундирующих ионов и наличие результирующего заряда. Не стоит забывать, что исходная разница вне- и внутриклеточной концентрации Na^+ и K^+ в «живой» клетке создается исключительно благодаря постоянной работе $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{АТФазы}$.

2.3.2. ПОТЕНЦИАЛ ДЕЙСТВИЯ

Смещение мембранного потенциала на величину около 15 мВ, т. е. до уровня $-50 \dots -45$ мВ, в сторону положительных значений приводит к развитию потенциала действия в возбудимых тканях (нервная, мышечная и железистая). К. Коул и Х. Кертис (Cole & Curtis, 1939) впервые показали, что его генерация связана с резким увеличением ионной проницаемости мембраны. При этом сопротивление мембраны уменьшается в 40 раз, а ёмкость изменяется всего лишь на 2 %.

Как установили А. Ходжкин и Б. Катц (Hodgkin & Katz, 1949), в ходе потенциала действия на короткий момент времени внутренняя поверхность мембраны становится положительно заряженной по отношению к наружной среде (инверсия потенциала). На пике развития потенциала действия значение мембранного потенциала достигает уровня +50 мВ и выше. Единственный ион, равновесный потенциал которого имеет более высокое положительное значение, — это натрий. Для гигантского аксона кальмара E_{Na} равен +55 мВ при 18 °С.

Первоначальное увеличение проницаемости мембраны для ионов натрия приводит к поступлению внутрь клетки небольших их количеств и деполяризации мембраны, которая в свою очередь еще больше повышает натриевую проницаемость. В результате изменение потенциала носит регенеративный характер. Инверсия мембранного потенциала кратковременна. Нарастающая деполяризация рано или поздно «выключает» повышенную проницаемость для ионов натрия (инактивация натрия). Параллельно с этим, правда с некоторым запаздыванием, деполяризация вызывает увеличение проницаемости для калия (задержанное выпрямление). Именно оно определяет нелинейность вольт-амперной характеристики мембраны при деполяризации (см. рис. 121). В результате мембранный потенциал возвращается к исходному уровню.

Развитие потенциала действия не требует выработки энергии. Расчеты показывают, что при каждом импульсе через 1 см^2 мембраны гигантского аксона проходит по $(3-4) \cdot 10^{-12}$ моль Na^+ и K^+ . Это эквивалентно тому,

что клетку покидает лишь один из 10 млн внутриклеточных K^+ . Указанная структура способна генерировать до полумиллиона импульсов без перезарядки своей трансмембранной батареи (несколько часов работы).

Клетка запасает потенциальную энергию в виде мембранного потенциала благодаря работе $Na^+ - K^+$ -АТФазы. Ее активность обеспечивает постоянную зарядку мембранной батареи. На коротких интервалах времени мембранный потенциал и потенциал действия не зависят от работы $Na^+ - K^+$ -насоса. Однако при блокировании $Na^+ - K^+$ -АТФазы утечка ионов приводит к тому, что клетка, даже в состоянии покоя, постепенно теряет K^+ и накапливает Na^+ . Как следствие, мембранный потенциал постепенно снижается до нуля.

Важную роль в регистрации мембранных токов при развитии потенциала действия сыграла предложенная К. Коулом (Cole, 1939) методика фиксации потенциала. Ее суть состоит в том, что она позволяет быстро сдвигать мембранный потенциал до любого желаемого уровня и удерживать (фиксировать) его на этом уровне сколь угодно долго.

При фиксации потенциала стало возможным измерить трансмембранный ток с хорошим временным разрешением, а также отдельно измерить ток, идущий через сопротивление. За счет быстрой и полной зарядки мембранной ёмкости мембранный ток становится просто функцией мембранной проводимости и напряжения ($I_m = G_m \cdot \Delta V_m$) и позволяет оценить изменения общей ионной проводимости, а следовательно, и специфических ионных проводимостей при изменении мембранного потенциала. Помимо этого, при фиксации напряжения предотвращаются вторичные изменения мембранного потенциала (задержанное выпрямление).

Ступенчатый сдвиг мембранного потенциала от исходного уровня до +60 мВ приводит к появлению трансмембранного комплексного тока. За кратковременным ёмкостным током следует двухфазный ионный ток, сначала входящий, а затем по прошествии 2 мс — выходящий. Чем больше исходная ступенька деполяризующего тока, т. е. чем сильнее напряжение на мембране «уводится» от уровня потенциала покоя, тем ниже амплитуда раннего входящего тока и тем выше амплитуда задержанного выходящего тока. При сдвигах мембранного потенциала до уровня +50–60 мВ ранний входящий ток становится равным нулю, при еще больших сдвигах — меняет направление своего движения на противоположное, т. е. становится выходящим. Задержанный выходящий ток уменьшается только в случае гиперполяризационного сдвига мембранного потенциала и при его уровне –80 мВ (потенциал инверсии) меняет свое направление. Характер и динамика данных токов представлены на рис. 131.

Результаты экспериментов были объяснены следующим образом. Входящий ток наблюдается вследствие увеличения натриевой проницаемости при деполяризации и обусловлен движением Na^+ внутрь клетки. Очевидно,

что в этом случае его потенциал инверсии должен совпадать с равновесным потенциалом для натрия (+55 мВ), что и наблюдалось. Аналогичные рассуждения, применимые к задержанному выходящему току, позволили ассоциировать его с движением K^+ .

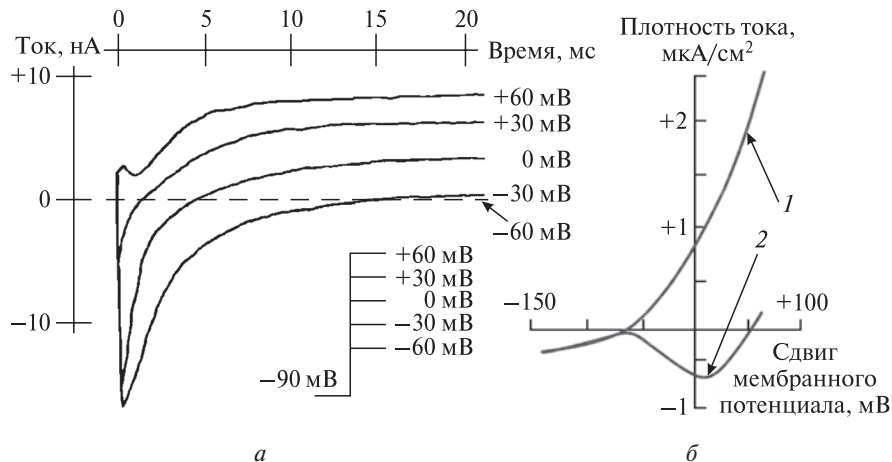


Рис. 131. Мембранные токи, наблюдаемые при ступенчатых сдвигах потенциала с -90 мВ до -60 , -30 , 0 , $+30$ и $+60$ мВ (а) и соотношение между мембранным током и мембранным потенциалом (б):
 1 — установившийся задержанный выходящий ток (обусловлен K^+);
 2 — пиковое значение входящего тока (обусловлен Na^+).
 Ноль абсциссы (б) соответствует потенциалу покоя

Существует несколько способов разделения описанных выше токов. Так, замена натрия в наружном растворе на холин (катион, не способный проникать в клетку) приводит к исчезновению входящего тока при деполяризации, оставляя только выходящий ток, обусловленный ионами калия. Вычитая оставшийся выходящий ток из общего значения трансмембранного тока, можно определить натриевую компоненту тока.

Однако наилучшие результаты достигаются при использовании специфических блокаторов ионных каналов (рис. 132).

Тетродотоксин (ТТХ) способен избирательно блокировать потенциалчувствительные Na^+ -каналы, позволяя выявить временной ход калиевых токов. Напротив, **тетраэтиламмоний (ТЭА)** избирательно блокирует K^+ -каналы задержанного выпрямления, и его использование позволяет проследить за ходом натриевых токов при развитии потенциала действия.

Калиевые токи начинаются с задержкой порядка $0,5$ мс и возрастают пропорционально величине деполяризации. В течение 5 мс после деполя-

ризационного сдвига они достигают плато, удерживаясь на нем в течение всего периода деполяризации (см. рис. 132, *а*).

Натриевые токи возникают без видимой задержки и после каждого деполяризующего сдвига потенциала быстро достигают максимума, а если деполяризация продолжает поддерживаться — обращаются в нуль (см. рис. 132, *б*). Инактивация Na^+ -тока ускоряется с увеличением деполяризации (при +30 мВ она хорошо выражена уже через 1 мс).

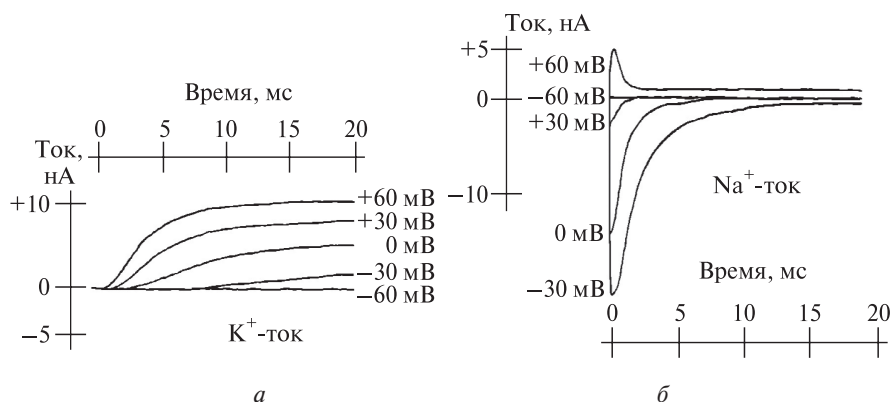


Рис. 132. Фармакологическое разделение мембранных токов: *а* — при действии ТТХ (K^+ -ток); *б* — при действии ТЭА (Na^+ -ток)

А. Ходжкин и А. Хаксли (Hodgkin & Huxley, 1952) смогли количественно описать, как изменяется натриевая и калиевая проводимости при изменении мембранного потенциала и по ходу развития потенциала действия. Поскольку токи в ионных каналах соответствуют закону Ома, то для тока, переносимого данным ионом, справедливо равенство $I_{ion} = G \cdot E$. А так как источником ЭДС (E) для ионного тока служит разность между мембранным потенциалом (V_m) и потенциалом равновесия (E_{ion}) для данного иона, то $I_{ion} = g_{ion} \cdot (V_m - E_{ion})$.

Использование при анализе ионных токов малых скачков потенциала и временных отрезков дало возможность воспроизвести временной ход потенциала действия по известным значениям амплитуд и временного хода натриевой и калиевой проводимостей (рис. 133).

Основываясь на ряде эмпирически выведенных уравнений, описывающих изменение ионных проводимостей в зависимости от мембранного потенциала и времени, а также на уравнениях, описывающих пассивные свойства мембран, А. Ходжкин и А. Хаксли (Hodgkin & Huxley, 1952) теоретически рассчитали форму распространяющегося потенциала действия и оценили скорость его распространения. Вычисленная скорость составила 18,8 м/с, экспериментальная — 21,2 м/с.

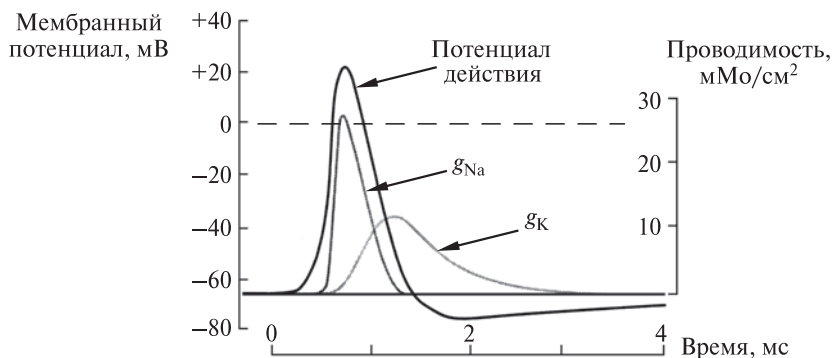


Рис. 133. Изменения g_{Na} и g_K при развитии потенциала действия

Распространяющийся потенциал действия, как правило, возникает в районе аксонного холмика, участка мембраны нейрона, расположенного в месте отхождения аксона от тела клетки. Ионы натрия, входящие внутрь клетки в возбужденном участке мембраны, служат источником электротонического деполяризационного потенциала, распространяющегося во всех направлениях (рис. 134).

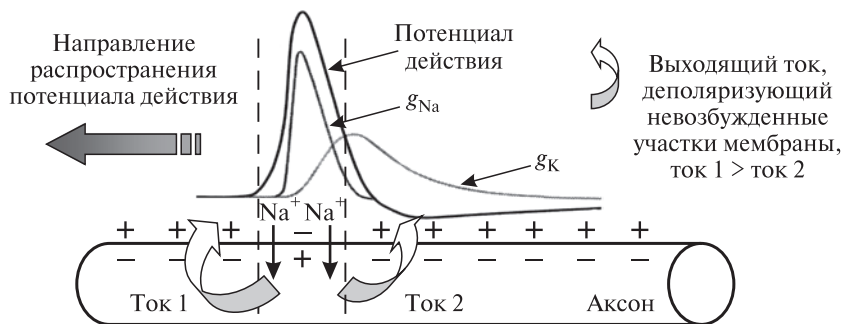


Рис. 134. Распространение потенциала действия.

Приведены временной ход потенциала действия и направления мембранных токов

Однако мембрана сомы обладает меньшей электрической возбудимостью (высоким порогом) по сравнению с аксональной мембраной. В результате электротоническая деполяризация достигает порога и вызывает возникновение потенциала действия в соседнем с аксонным холмиком участке мембраны нервного волокна. Далее ситуация повторяется.

Электротонические натриевые деполяризационные токи вызывают смещение мембранного потенциала и последующую генерацию потен-

циала действия только спереди от фронта распространяющейся волны возбуждения. Позади фронта немедленная генерация потенциала действия невозможна как вследствие повышенной ионной проницаемости мембраны для ионов калия (следовая гиперполяризация), увеличивающей порог, так и за счет сохраняющейся инактивации натриевых каналов, без перехода которых в открытое состояние клетка остается в абсолютном рефрактерном периоде.

Если искусственно (электрическим током) вызвать возникновение потенциала действия посередине нервного волокна, то он начнет распространяться по обе стороны от места генерации. В этом случае не существует предпочтительного направления его распространения, поскольку мембрана по разные стороны от точки его возникновения одинаково восприимчива к действию электротонически распространяющихся деполяризационных натриевых токов.

Таким образом, при развитии потенциала действия наблюдается быстрое нарастание натриевой проводимости, а также задержанное нарастание неинактивирующейся калиевой проводимости, которая прекращается только при реполяризации мембраны, и инактивации натриевой проводимости.

Инактивация натриевых каналов (рис. 135) не означает восстановления состояния покоя — мембрану невозможно деполяризовать даже после кратковременной реполяризации, хотя последующая гиперполяризация значительно повышает вероятность активации натриевых каналов. Длительная деполяризация весьма успешно предотвращает возбуждение, как правило, даже эффективнее, нежели равная ей по величине гиперполяризация.

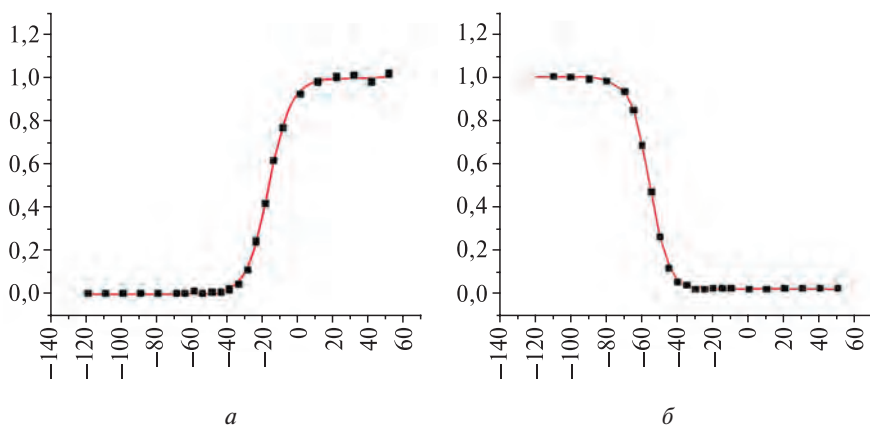


Рис. 135. Потенциал-зависимость активации (а) и инактивации (б) Na⁺ токов. Ось абсцисс — напряжение на мембране (мВ), ось ординат — нормализованная проводимость (а) и доступность (б) (по Pfaff & Volkow, 2016)

Клетки, мембранный потенциал которых ниже $-40\ldots-50$ мВ, утрачивают возбудимость.

Ионная теория позволила объяснить такие явления, как пороговый потенциал, — при нем входящий натриевый ток превышает выходящий ток и рефрактерный период, который является следствием инактивации натриевых каналов.

В ряде случаев, например в кардиомиоцитах, фаза деполяризации может обеспечиваться входящим током Ca^{2+} , проникающих в клетку через потенциалзависимые кальциевые каналы.

Решающие эксперименты, которые окончательно утвердили **ионную гипотезу**, были проведены П. Бейкером, А. Ходжкиным и Т. Шоу (Baker, Hodgkin & Shaw, 1962). При помощи покрытого резиной валика им удалось выдавить аксоплазму из гигантского нервного волокна кальмара, не повредив мембрану, и заменить ее на искусственные растворы различного ионного состава. Оказалось, что у аксона, помещенного в морскую воду и содержащего 600 мМ KCl, величина мембранного потенциала составляет -60 мВ, а полная замена внутриклеточного калия на натрий превращает мембранный потенциал в нуль. Последующее увеличение внеклеточной концентрации калия до 600 мМ приводит к возникновению на мембране аксона потенциала в $+60$ мВ (нормальный потенциал претерпевает полную инверсию). Увеличение внутриклеточной (снижение внеклеточной) концентрации натрия приводит к уменьшению амплитуды потенциалов действия, прежде всего овершута, и в конце концов к полному прекращению их генерации. Все наблюдаемые изменения находились в полном соответствии с теоретическими предсказаниями уравнения Гольдмана.

Алан Ллойд
Ходжкин
(Alan Lloyd
Hodgkin,
1914–1998).
Фотография
1936 г.



Эндрю Филлинг
Хаксли
(Andrew Fielding
Huxley,
1917–2012).
Фотография
1963 г.



В 1963 г. за исследование функций нервных клеток А. Ходжкин и А. Хаксли (совместно с Дж. Экклсом) были удостоены Нобелевской премии по физиологии или медицине.

2.3.3. ИОННЫЕ ТОКИ ЧЕРЕЗ ОДИНОЧНЫЕ КАНАЛЫ

В 1978 г. немецкими биофизиками Э. Неером и Б. Сакманом (Neher & Sakmann, 1978) для измерения ионных токов через одиночные каналы был предложен метод локальной фиксации потенциала — *patch clamp*. Суть метода заключается в следующем. Стеклопипетка с диаметром кончика около 1 мкм подводится к мембране клетки и благодаря легкому присасыванию (через пипетку подается отрицательное давление) образует плотный контакт с участком мембраны, надежно электрически изолируя его (сопротивление контакта часто превышает 1 ГОм). В результате становится возможным зарегистрировать токи, проходящие через этот участок мембраны, содержащий всего несколько ионных каналов.

Выделяют четыре конфигурации данного метода (рис. 136):

- ***cell attached*** (прикрепленная к клетке) — базовая конфигурация, описанная выше;

- ***inside out*** (внутренней стороной наружу) — после образования гигаомного контакта пипетка отводится от клеточной поверхности, вырывая участок мембраны, ее внутренняя сторона омывается раствором пипетки, что позволяет регистрировать активность одиночных каналов;

- ***outside out*** (наружной стороной наружу) — увеличивая присасывающую силу, можно добиться глубокой инвагинации мембраны внутрь пипетки и ее разрыва, а последующее ее отведение от поверхности клетки приводит к замыканию концов вновь вырванного участка мембраны на себя. В результате внутренняя поверхность контактирует с раствором внутри пипетки, а на наружную поверхность могут воздействовать растворы различного состава, что позволяет тестировать реакции каналов на приложения различных фармакологических препаратов;

- ***whole cell*** (целая клетка) — после образования гигаомного контакта под действием повышенной всасывающей силы происходит разрыв участка клеточной мембраны, находящейся внутри пипетки. Как следствие, внутриклеточное содержимое может быть заменено на искусственный раствор, подаваемый через пипетку. Разновидностью данной конфигурации является *perforated patch* (продырявленный пэтч), когда в пипеточном растворе присутствует вещество (нистагмин), способное формировать мембранные поры, что препятствует вымыванию внутриклеточного содержимого, но сохраняет электрический контакт с клеткой.

Методика локальной фиксации потенциала позволила не только количественно оценить ионные токи через одиночные каналы, но также способствовала пониманию функционирования ионных каналов клетки. Токи одиночных каналов регистрируются в виде прямоугольных сигналов, которые появляются нерегулярно, с различной продолжительностью и постоянной амплитудой (рис. 137).

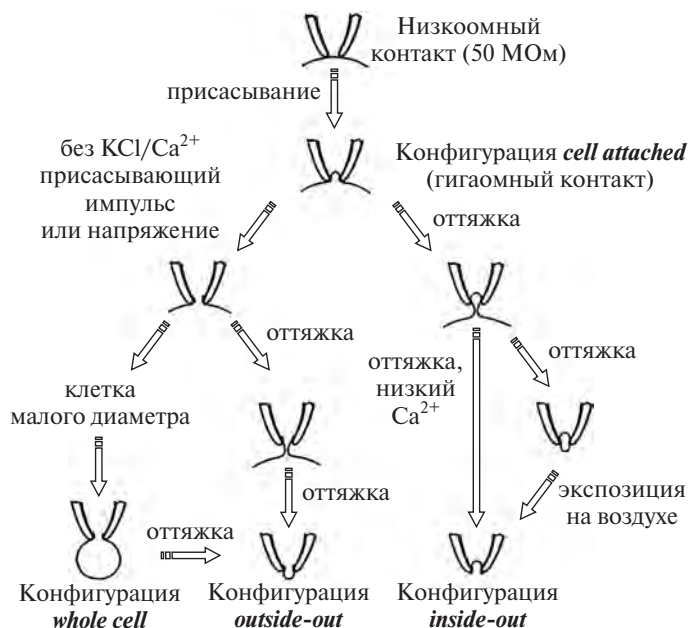


Рис. 136. Локальная фиксация потенциала (patch clamp)

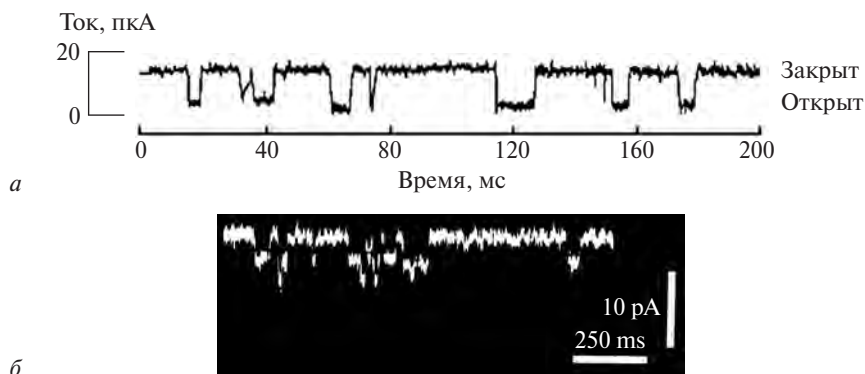


Рис. 137. Токи одиночных ионных каналов, зарегистрированных при помощи метода локальной фиксации потенциала (а) и первая регистрация таких токов (б) Э. Неером и Б. Сакманом¹

¹Neher E., Sakmann B. Single-channels currents recorded from membrane of denervated frog muscle cells // Nature. 1976. Vol. 260. P. 799–802.

Анализ кинетики каналов, т. е. времени нахождения их в открытом (закрытом) состоянии, позволяет судить о механизмах, управляющих этими процессами.

2.3.4. СИНАПТИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ

П. Фэтт и Б. Катц (Fatt & Katz, 1951–1953), а также Дж. Экклз (Eccles, 1957) применили ионную гипотезу для анализа синаптической передачи в химических синапсах. Оказалось, что изменения мембранной проводимости опосредуют возбуждающие и тормозные синаптические воздействия. В основе наблюдаемых эффектов лежит взаимодействие выделившегося из пресинаптической терминали медиатора с соответствующим рецептором постсинаптической мембраны.

Очевидно, что возможны два базовых варианта изменения ионной проводимости постсинаптической мембраны, определяющие возникновение синаптических потенциалов.

1. Синаптические потенциалы, связанные с увеличением проводимости.

Возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП). Их развитие связано с увеличением проницаемости мембраны для катионов, прежде всего для Na^+ и K^+ . ВПСП стремится сдвинуть мембранный потенциал в сторону деполяризации дальше порога генерации потенциала действия (-45 мВ). Характер реакции мембраны отдаленно напоминает таковой при развитии потенциала действия, но отличается от последнего целым рядом особенностей:

- возрастание натриевой и калиевой проводимостей происходит одновременно, а не последовательно, как при развитии потенциала действия;
- увеличение Na^+ -проводимости не носит регенеративного характера, т. е. Na^+ -каналы, активируемые медиатором, не являются потенциал-чувствительными;

- натриевая проводимость не снижается при действии ТТХ, а калиевая – при аппликации ТЕА, что лишний раз подчеркивает участие в их развитии ионных каналов другого типа, нежели при возникновении потенциала действия.

Важной характеристикой ионного механизма, вызывающего ПСП, является уровень мембранного потенциала, при котором постсинаптический потенциал становится равным нулю (*потенциал (E) инверсии*). Этот вопрос был исследован А. Такеучи и Н. Такеучи (Takeuchi & Takeuchi, 1959, 1960) при использовании методики фиксации потенциала.

Оказалось, что при сдвиге мембранного потенциала с -60 до -90 мВ, т. е. при гиперполяризации, амплитуда ВПСП возрастала (рис. 138).

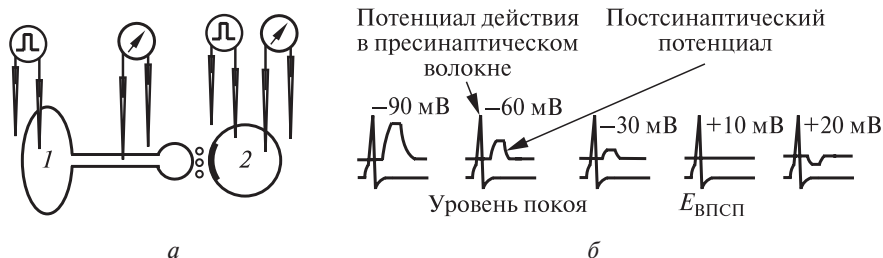


Рис. 138. ВПСП, связанные с увеличением проводимости:

а — схема эксперимента: 1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка;
б — определение потенциала инверсии

При этом через ионные каналы постсинаптической мембраны проходит большой входящий, а через несинаптическую мембрану большой выходящий ток, который, собственно, и приводит к развитию деполяризации. Постепенная деполяризация мембраны вызывает прогрессивное снижение амплитуды ВПСП. При мембранном потенциале $-10 \dots -15$ мВ ВПСП обращается в нуль. Дальнейшая деполяризация вызывает инверсию ВПСП и линейный рост его амплитуды. При этом регистрируется суммарный выходящий ток через участки постсинаптической мембраны и, как следствие, гиперполяризация несинаптической мембраны. В физиологических условиях под влиянием медиатора мембранный потенциал от исходного уровня (-60 мВ) через порог (-45 мВ) сдвигается по направлению к потенциалу инверсии.

Потенциал инверсии для возбуждения ($E_{\text{ВПСП}}$) представляет собой среднее значение между натриевым ($+55$ мВ) и калиевым (-75 мВ) равновесными потенциалами. Следовательно, ионные токи, проходящие через синаптическую мембрану, не могут быть обусловлены движением только ионов натрия, поскольку в этом случае $E_{\text{ВПСП}}$ должен был бы соответствовать E_{Na} , ни тем более ионов кальция ($E_{\text{Ca}} = +120$ мВ), калия ($E_{\text{K}} = -75$ мВ) или хлора ($E_{\text{Cl}} = -65$ мВ). Изменение наружной концентрации натрия, калия и кальция приводит к изменению потенциала инверсии, в то время как концентрация ионов хлора никак не влияет на его величину. Использование радиоактивных изотопов также показало возрастание проницаемости постсинаптической мембраны только для катионов. Изучение методом локальной фиксации потенциала проводимости управляемых ацетилхолином ионных каналов постсинаптической мембраны показало, что они относительно легко проницаемы для Na^+ (входящий ток), K^+ (выходящий ток) и Ca^{2+} (входящий ток) в соответствии с их электрохимическими градиентами. При этом кальциевая проводимость относительно мала и ею можно пренебречь, а натриевая проводимость несколько выше калиевой из-за того, что количество ионов натрия, доступных для перемещения через канал, превышает таковое для K^+ .

Тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП). Взаимодействие медиатора с рецептором приводит к увеличению ионной проницаемости постсинаптической мембраны для ионов калия и хлора. В большинстве случаев равновесный потенциал для этих ионов превышает уровень потенциала покоя. В результате при открытии соответствующих ионных каналов, когда K^+ и Cl^- начнут движение по градиенту своих концентраций соответственно из клетки или в клетку, потенциал на мембране будет стремиться достигнуть уровня E_K или E_{Cl} , т. е. будет происходить гиперполяризация клетки.

При оценке потенциала инверсии для торможения ($E_{ТПСП}$) применяются те же методы, что и в случае возбуждения (рис. 139).

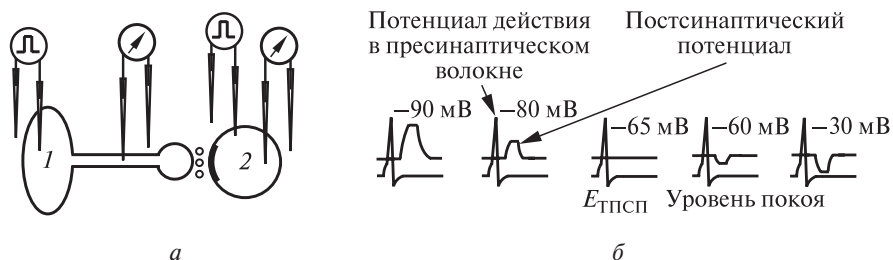


Рис. 139. ТПСП, связанные с увеличением проводимости:

а — схема эксперимента: 1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка;
б — определение потенциала инверсии

При деполяризации мембраны постсинаптической клетки наблюдается увеличение амплитуды ТПСП, поскольку уровень мембранного потенциала еще больше смещается по отношению к равновесным потенциалам для калия или хлора. При сильной гиперполяризации, например до -100 мВ, электродвижущая сила превысит действие концентрационного градиента, и в результате ионы хлора начнут выходить из клетки, а ионы калия, напротив, поступать в нее. В обоих случаях это приведет к деполяризации, т. е. реверсии ТПСП. Значение $E_{ТПСП}$ при этом будет соответствовать равновесным потенциалам для K^+ или Cl^- .

ТПСП, связанные с увеличением проводимости, способны реализовать тормозное воздействие на клетку двумя способами:

- увеличивают проводимость мембраны (*шунтирующее* или *закорачивающее* действие), что наблюдается во всех случаях;
- гиперполяризуют мембрану клетки, уводя ее от порога (не наблюдается в клетках с высоким значением потенциала покоя).

Даже в случаях, когда ТПСП не гиперполяризует мембрану, его развитие препятствует развитию возбуждения за счет фиксации мембранного потенциала на уровне E_K или E_{Cl} .

2. Синаптические потенциалы, связанные с уменьшением проводимости.

Впервые были обнаружены в нервной системе моллюска *Aplysia*. Встречаются гораздо реже и действуют медленно, т. к. связаны с увеличением сопротивления мембраны, а следовательно, и постоянной времени мембраны (τ_m).

Возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП). Для некоторых клеток характерна высокая проницаемость мембраны для ионов калия. В результате мембранный потенциал таких клеток несколько выше «нормального» уровня (-60 мВ). Под действием медиатора указанные каналы закрываются, калиевая проводимость падает и клетка деполяризуется.

Данные ВПСП ведут себя иначе, нежели ВПСП, связанные с увеличением проводимости (рис. 140). Деполяризация постсинаптической мембраны приводит к увеличению их амплитуды, а гиперполяризация, напротив, вызывает инверсию таких ВПСП (потенциал инверсии равен E_K). Это объясняется тем, что при деполяризации мембраны выключится больший синаптический ток, что вызовет большую деполяризацию. При гиперполяризации мембраны дальше уровня E_K результирующий электрохимический градиент изменяется таким образом, что ионы калия будут стремиться войти в клетку и деполяризовать ее. В этом случае выключение калиевой проводимости приводит к гиперполяризации клетки.

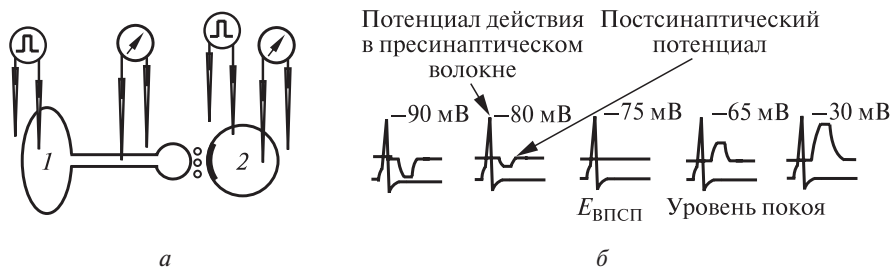


Рис. 140. ВПСП, связанные с уменьшением проводимости:

а — схема эксперимента: 1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка;
б — определение потенциала инверсии

ВПСП, обусловленные уменьшением проводимости, могут быть более эффективными, чем ВПСП, связанные с увеличением проводимости, поскольку они увеличивают проводимость находящихся поблизости и работающих одновременно возбуждающих каналов постсинаптической мембраны.

Тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП). Характерны для клеток с высокой натриевой проводимостью в покое. В результате из-за просачивания Na^+ внутрь клетки ее мембранный потенциал будет ниже

«нормального» уровня. Действие медиатора выключает эту повышенную проводимость мембраны, и клетка гиперполяризуется.

Гиперполяризация постсинаптической мембраны увеличивает амплитуду таких ТПСР (рис. 141).



Рис. 141. ТПСР, связанные с уменьшением проводимости:

а — схема эксперимента: 1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка;
б — определение потенциала инверсии

Это происходит за счет того, что в этих условиях входящий (Na^+) деполяризующий ток усиливается, поэтому его инактивация делает мембрану клетки более электроотрицательной (гиперполяризует клетку). Деполяризация мембраны уменьшает их амплитуду, а при достижении E_{Na} (+55 мВ) ТПСР обращаются в нуль. При еще больших деполяризациях, например +100 мВ, указанные ТПСР изменяют знак и превращаются в деполяризующий постсинаптический потенциал. В этом случае натриевая проводимость обуславливает выходящий (как следствие нового электрохимического градиента) гиперполяризующий ток. Его инактивация приводит к деполяризации клетки.

Тормозное действие ТПСР, обусловленных уменьшением проводимости, менее эффективно по сравнению с ТПСР, вызываемыми увеличением проводимости мембраны. Это обусловлено тем, что последние способны закорачивать близлежащие возбуждающие каналы синаптической мембраны и каналы несинаптической мембраны, обеспечивающие генерацию потенциала действия.

2.3.5. ПОТЕНЦИАЛЫ ПРИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧЕ СИГНАЛА

В химических синапсах мембраны взаимодействующих клеток расположены на некотором удалении друг от друга (200 Å). При этом внеклеточная жидкость, разделяющая их, обладает низким электрическим сопротивлением (рис. 142).

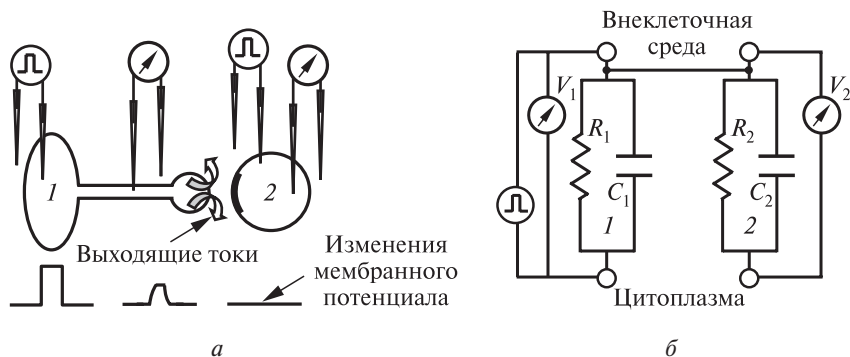


Рис. 142. Протекание тока в химическом синапсе:
 а — схема эксперимента; б — эквивалентная электрическая схема;
 1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка

В результате электрический ток, генерируемый любой из мембран, почти полностью уходит через синаптическую щель во внеклеточное пространство.

Подсчитано, что в синапсе диаметром 2 мкм на другую сторону синаптической щели проходит менее одной тысячной доли тока при действии относительно длительных токов (Eccles & Jaeger, 1958). При более кратковременных токах, например при развитии потенциала действия, через синаптическую щель протекает менее одного процента генерируемого тока (Экклз, 1966).

Прямая синаптическая передача обусловлена наличием щелевых контактов между взаимодействующими клетками. В результате часть тока (токов), возникающего в пресинаптической клетке, протекая через обладающие невысоким сопротивлением коннексоны, попадает внутрь постсинаптической клетки (рис. 143). На эквивалентных электрических схемах химические синапсы характеризуются отсутствием связующего сопротивления между пре- и постсинаптической клеткой, а для электрических синапсов обязательно присутствие сопротивления связи.

Распространение тока происходит при помощи электротона, поэтому передачу через электрические синапсы часто называют электротонической. Таким образом, изменение потенциала в пресинаптической клетке вызывает в постсинаптической клетке однонаправленный сдвиг потенциала, как правило, меньшей амплитуды из-за потерь, связанных с преодолением сопротивления внутренней среды клетки и утечки тока через мембрану клеток и область щелевого контакта.

Важнейшей характеристикой прямой синаптической передачи является *коэффициент связи*. Это безразмерная величина, позволяющая оценить

степень падения амплитуды сигнала при передаче от клетки к клетке. Он определяется:

в случае передачи в прямом направлении как

$$KC(\text{пр.}) = \frac{V_2}{V_1} = \frac{R_2}{(R_2 + r_c)};$$

в случае передачи в обратном направлении —

$$KC(\text{обр.}) = \frac{V_1}{V_2} = \frac{R_1}{(R_1 + r_c)},$$

где V_1 , R_1 и V_2 , R_2 — изменения потенциала и входные сопротивления пре- и постсинаптической клеток, r_c — сопротивление связи между ними.

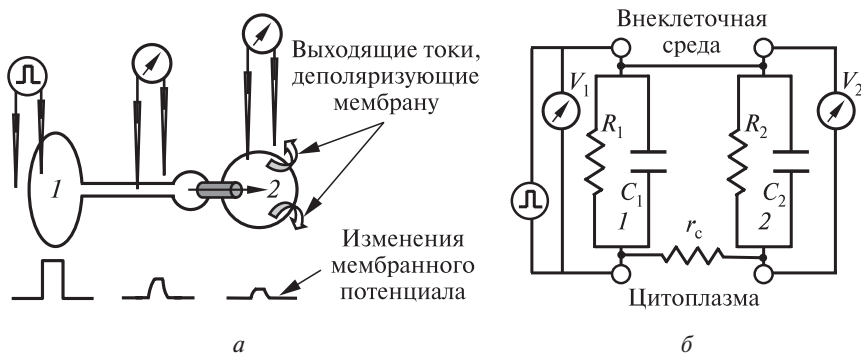


Рис. 143. Протекание тока в электрическом синапсе:
 а — схема эксперимента; б — эквивалентная электрическая схема;
 1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка

При этом в формулу для определения коэффициента связи не входит сопротивление пресинаптической клетки. Это теоретически объясняет наличие выпрямляющих свойств электрических синапсов, т. е. передаче сигнала преимущественно в одном направлении, а не в обоих, как это можно предположить, исходя из их структурной организации.

Действительно, если сопротивление мембраны постсинаптического нейрона (R_2) значительно превышает сопротивление связи (r_c), то коэффициент прямой связи (V_2/V_1) будет стремиться к единице — сигнал передается с минимальными потерями в амплитуде. В случае, когда сопротивление мембраны пресинаптического нейрона (R_1) мало по сравнению с сопротивлением связи (r_c), коэффициент обратной связи (V_1/V_2) стремится к нулю — сигнал передается с большими потерями амплитуды. Таким образом, в одном направлении передача сигнала может быть намного эффективнее.

В 1957 г. Э. Фершпан и Д. Поттер (E. Furshpan & D. Potter) описали электрический синапс в нервной системе речного рака. Последующие электронномикроскопические исследования показали наличие оригинальной структуры (коннексоны), обеспечивающей прямой контакт цитоплазмы соединенных таким образом клеток. Широкое распространение щелевых контактов между клетками нервной ткани позволяет по-новому взглянуть на, казалось бы, полностью отвергнутую к этому времени теорию сети. На 60-е гг. XX века приходится и открытие смешанных синапсов, а также ультрамикроскопическая детализация строения различных межклеточных соединений.

Физиологически электрические синапсы классифицируются на основании способности к проведению электрических сигналов.

1. Электротонические синапсы одностороннего проведения. У беспозвоночных (кольчатые черви и ракообразные) в состав нервной системы входят гигантские аксоны, разделенные поперечными перегородками на сегменты (рис. 144). Именно моторный синапс между латеральным

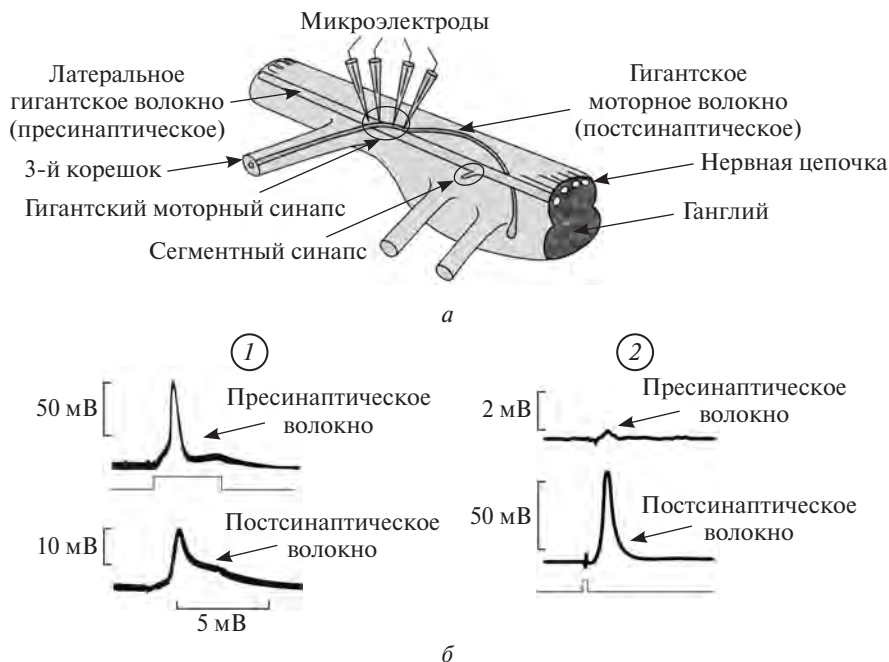


Рис. 144. Электрические синапсы в нервной системе рака:

а – брюшная нервная цепочка (схема);

б – проведение сигнала в одностороннем электрическом синапсе

(1 – при электрической стимуляции пресинаптического волокна;

2 – при электрической стимуляции постсинаптического волокна)

гигантским волокном (пресинаптическое) и гигантским моторным волокном (постсинаптическое) третьего корешка рака впервые был описан Э. Фершпаном и Д. Поттером в качестве электрического. В этом случае возможна передача возбуждения только в одном (прямом) направлении, практически без задержки.

Задержка составляет 0,1 мс, что в 10–20 раз меньше времени синаптической в синапсе звездчатого ганглия кальмара. Постсинаптическая реакция в прямом направлении имеет форму ВПСП, или на его основе возникает потенциал действия. При возникновении потенциала действия в постсинаптическом волокне величина ВПСП составляет всего 0,3 мВ.

Некоторые электротонические синапсы, например между нейронами пиявки, обладают свойством *двойного выпрямления*. Так, через указанные контакты в прямом направлении хорошо передаются деполяризующие и плохо гиперполяризующие толчки тока. Для передачи в обратном направлении характерно противоположное.

2. Электротонические синапсы двустороннего проведения. Межсегментарные перегородки гигантских аксонов не оказывают сопротивления продольному движению тока любой направленности в любом направлении, т. е. не обладают свойствами электрического выпрямителя. Перегородки представляют собой участок толщиной 200 Å, где мембраны каждого сегмента аксона плотно прилежат друг к другу. В ряде случаев (у ракообразных) перегородки обладают значительным сопротивлением, что приводит к возникновению задержки передачи сигнала в 0,1–0,2 мс, и, по сути, функционируют как дополнительное сопротивление аксоплазмы, ослабляя электротоническое распространение деполяризации, лежащее в основе распространения потенциала действия. В противоположность этому септальные мембраны кольчатых червей характеризуются низким сопротивлением (r_c мало). В результате передача сигнала ослабляется в гораздо меньшей степени.

Схожими характеристиками обладают и комиссуральные ветви, соединяющие два гигантских латеральных аксона в каждом сегменте. Эти контакты действуют одинаково в обоих направлениях в отношении импульсов и электротона. Коэффициент ослабления в зависимости от вида животного колеблется от 3 до 12.

Двусторонние электрические синапсы выявлены и между нейронами: в сердечном ганглии омара, ганглиях моллюсков и пиявок, спинном мозге рыб и амфибий, гиппокампе млекопитающих и т. д. В итоге потенциал действия в одном нейроне способен вызвать пассивную деполяризацию в другом и даже генерацию импульса. Это свойство лежит в основе одной из важнейших функций, выполняемых электротоническими синапсами, — *синхронизации активности* групп нейронов (рис. 145).

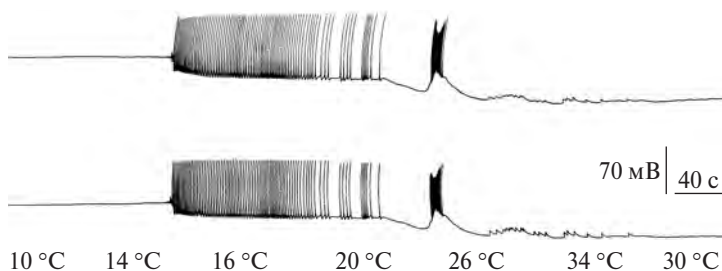


Рис. 145. Двусторонний электрический синапс в нервной системе моллюска *Lymnaea stagnalis*. Запись отражает влияние температуры на спонтанную электрическую активность электротонически связанных нейронов VD1/RPaD2. Одновременная регистрация электрической активности нейрона VD1 (верхняя линия записи) и RPaD2 (нижняя линия записи).

Электротоническая передача сигнала обладает рядом преимуществ по сравнению с химической. Во-первых, это более высокая скорость проведения возбуждения, обусловленная отсутствием или значительным снижением синаптической задержки, что существенно для реализации быстрых рефлексов избегания. Во-вторых, в основном за счет простоты организации электрические синапсы отличаются большей надежностью — не подвержены действию нейротоксинов, синаптической депрессии.

Тем не менее химические синапсы обеспечивают значительно более высокую степень регуляции, а также специфичность межклеточной коммуникации. Как следствие, по мере усложнения организации нервной системы химические синапсы в значительной степени вытеснили электрические, хотя это утверждение принимается далеко не всеми нейрофизиологами.

Электрохимические (смешанные) синапсы, как и электротонические, тоже можно разделить на две группы по их физиологическим (функциональным) свойствам (описание их строения дано в подразд. 1.3).

1. Возбуждающие электрохимические синапсы. Как уже было отмечено, с функциональной точки зрения это скорее химические синапсы, в которых электрическая составляющая практически не играет значимой роли в плане обеспечения функционирования синапса. Фармакологические доказательства смешанного характера распространения потенциала (электротонически и за счет формирования химического синаптического потенциала) через область такого контакта были получены А. Мартином и Г. Пиларом (Martin & Pilar, 1963) (рис. 146).

Кратковременная компонента обусловлена постоянным электрическим током, затекающим в постсинаптическую клетку через соединения электрического типа, а вторая компонента генерируется под действием

медиатора (ВПСП) и возникает через 1,5–2 мс после первой. Она уменьшается при гиперполяризации постсинаптического нейрона и блокируется при действии *d*-тубокурарина, как это характерно для холинергического синапса, что также доказывает ее «химическое» происхождение.

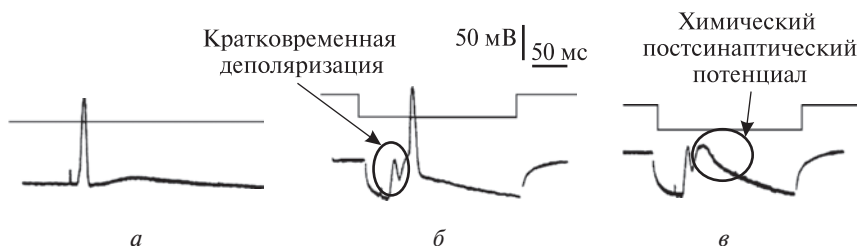


Рис. 146. Передача сигнала в цилиарном ганглии цыпленка (по Martin & Pilar, 1963):

- а* – стимуляция преганглионарного волокна вызывает появление потенциала действия в постсинаптическом нейроне;
- б* – при гиперполяризации постсинаптического нейрона обнаруживается ранняя кратковременная депполяризация, обусловленная «затеканием» тока из пресинаптического волокна; *в* – выявление химического ПСП при еще более сильной гиперполяризации

2. Тормозные электрохимические синапсы. Это в чистом виде химические синапсы, а электрическая компонента синаптического потенциала является следствием особенностей строения такого соединения (аксонная чашечка маутнеровских нейронов), приводящая к возникновению *внешнего гиперполяризующего потенциала* (ВГП), развивающегося под воздействием нормального потенциала действия пресинаптического волокна. Возникает ситуация, аналогичная действию внеклеточных электродов на мембрану нервного волокна. Под положительным электродом (анодом) ток частично входит через мембрану клетки внутрь, что сопровождается изменением мембранного потенциала: в результате накопления положительных зарядов, поступающих к наружной поверхности мембраны, увеличивается трансмембранная разность потенциалов, т. е. происходит гиперполяризация (рис. 147).

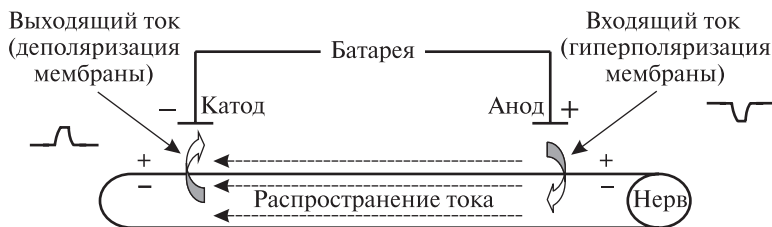


Рис. 147. Схема внеклеточной аппликации тока

Механизм, лежащий в основе функционирования смешанных си-напсов тормозного типа, совпадает с таковым для *эфаптической передачи* — форме взаимодействия близко расположенных немиелинизированных отростков нервных клеток, основанной на генерации распространяющимися нервными импульсами электрического поля (локальных полевых потенциалов), эффекты которого проявляются в отношении изначально неактивных волокон.

В 1940 г. Б. Катц и О. Шмитт показали (отчасти подтвердив схожие наблюдения Э. Дюбуа-Реймона второй половины XIX века), что в системе из двух прилежащих друг к другу нервов, иннервирующих конечности *Carcinus maenas*, распространение потенциала действия по одному из них приводит к изменению возбудимости интактного волокна. В частности, деполяризация «активного» нерва (возбуждение) вызывала гиперполяризацию «неактивного» волокна (торможение), а реполяризующие токи «активного» волокна приводили к легкой деполяризации «неактивного» нерва. Сам термин **эфапс** (от греч. *ephapsis* — прикасаться), т. е. участок плотного соприкосновения частей нейрона, где и происходит передача электрических сигналов, был предложен А. Арванитакисом годом позже.

Импульсы, проходящие по группам нервных волокон, способны индуцировать возбуждение других параллельно идущих аксонов. Как правило, это требует наличия специфических условий, способствующих значительному возрастанию возбудимости отростка (например, изменение кальциевого гомеостаза). Тормозные эффекты эфаптической передачи могут быть обусловлены формированием внешнего гиперполяризационного потенциала.

2.4. МЕХАНИЗМЫ ВЫДЕЛЕНИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРА

Потенциал действия, достигнув окончания нервной клетки, вызывает целый каскад превращений, заканчивающихся выделением нейромедиатора в синаптическую щель. Фактически речь идет о сопряжении на молекулярном уровне электрических и биохимических процессов.

На ранних этапах развития синаптологии «излюбленным» объектом исследования был и во многом продолжает оставаться таковым нервно-мышечный препарат лягушки (седалищный нерв — икроножная мышца). Большой размер обеспечивал легкий доступ микроэлектродов для снятия электрических сигналов, а препаровка и поддержание жизнеспособности препарата не представляли существенных методических трудностей. С другой стороны, полученные данные отражали поведение периферических синапсов и выводы, сделанные на их основе, потребовали экспериментального подтверждения для центральных (межнейронных) контактов мозга.

2.4.1. ДЕПОЛЯРИЗАЦИЯ НЕРВНОГО ОКОНЧАНИЯ

В нервном окончании происходят изменения ионной проводимости, аналогичные таковым в средней части аксона при прохождении потенциала действия. Работы Б. Катца и Р. Миледи (Katz & Miledi, 1967), проведенные на гигантском синапсе кальмара, позволили установить связь между уровнем мембранного потенциала нервного окончания и эффективностью синаптической передачи (рис. 148).

Оказалось, что в условиях действия тетродотоксина, т. е. при блокировании проводимости потенциал чувствительных Na^+ -каналов, происходит параллельное уменьшение амплитуд вызванных пресинаптических потенциалов действия и постсинаптических потенциалов. Эта зависимость носит прямой характер и является логарифмической — увеличение амплитуды пресинаптического импульса на 10 мВ вызывает увеличение амплитуды постсинаптического потенциала в 10 раз (рис. 149).

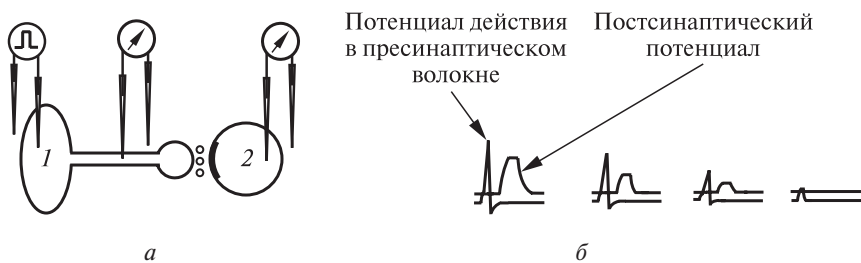


Рис. 148. Синаптическая передача в гигантском синапсе кальмара:

a — схема эксперимента:

1 — пресинаптическая клетка; 2 — постсинаптическая клетка;

б — изменение эффективности синаптической передачи

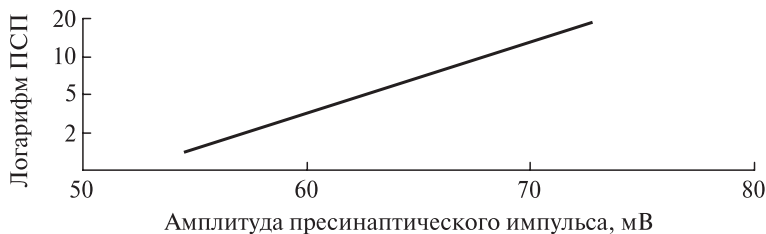


Рис. 149. Зависимость амплитуды постсинаптических потенциалов (ПСП) от амплитуды потенциала действия в гигантском синапсе кальмара

Впоследствии оказалось, что даже искусственная электротоническая деполяризация пресинаптического окончания, протекающая без регенеративного увеличения натриевой проницаемости, приводит к появлению постсинаптических потенциалов (в этом случае возникновение потенциала действия в пресинаптическом волокне блокировалось высокими дозами тетродотоксина).

При этом характер зависимости сохранялся — увеличение амплитуды электротонического потенциала в пресинаптическом волокне приводит к прогрессивному нарастанию амплитуды постсинаптических потенциалов (рис. 150). Кривая зависимости носит S-образный вид, характеризующий наличие четкого порога возникновения постсинаптических потенциалов — они появляются только в случае деполяризации пресинаптического волокна на 25 мВ и более. Затем происходит резкое нарастание амплитуды постсинаптических потенциалов в ответ на пресинаптическую деполяризацию, но по достижении уровня деполяризации в 60–65 мВ дальнейшего нарастания амплитуды постсинаптических потенциалов не происходит.

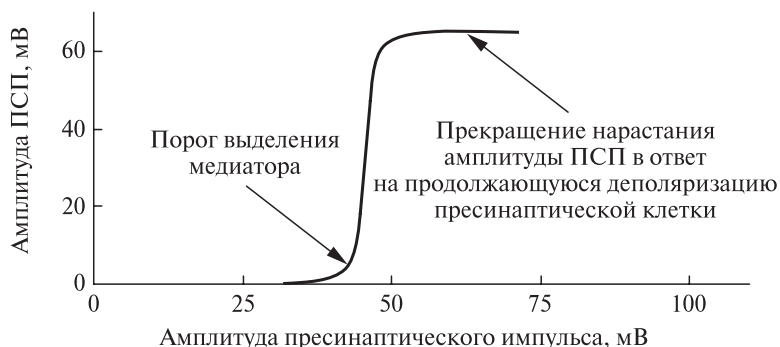


Рис. 150. Зависимость амплитуды постсинаптических потенциалов от степени деполяризации пресинаптического волокна в гигантском синапсе кальмара

Введение внутрь пресинаптического волокна ТЭА не вызывает изменений характеристик рассмотренной кривой. Таким образом, регенеративный натриевый ток не является необходимым условием для выделения нейромедиатора, а изменения проницаемостей мембраны для Na^+ и K^+ , т. е. открытие соответствующих ионных каналов, сами по себе не ответственные за освобождение медиатора.

На нервно-мышечных синапсах лягушки впервые было показано (Katz & Miledi, 1967), что вход кальция в клетку является важнейшим звеном, связывающим деполяризацию пресинаптического окончания и выброс нейромедиатора в синаптическую щель.

Впервые физиологическая роль Ca^{2+} была продемонстрирована С. Рингером (Ringer, 1882), показавшим необходимость этого иона для сокращения сердца крысы. Им же был разработан один из первых внеклеточных растворов для перфузии тканей, носящий его имя.

Оказалось, что в отсутствие Ca^{2+} химическая передача сигнала прерывается, несмотря на то что нервный импульс по-прежнему доходит до пресинаптической терминали. Напротив, увеличение наружной концентрации Ca^{2+} облегчает синаптическую передачу даже в присутствии ТТХ. Б. Катц и Р. Миледи (1969) обнаружили, что при деполяризации пресинаптического окончания наблюдается регенеративный входящий кальциевый ток, опосредованный потенциал-чувствительными Ca^{2+} каналами (как правило, низкопороговыми, LVA-типа), в норме маскирующийся более выраженными натриевым и калиевым токами. Использование хелаторов, способных связывать свободные ионы кальция (BAPTA, EGTA), показало, что вход Ca^{2+} в клетку ограничен областью пресинаптического оконча-

ния, включающей места высвобождения нейромедиатора. Первое прямое доказательство перехода кальция внутрь клетки при деполяризации было получено в экспериментах с экворином — белком, флуоресцирующим при связывании с Ca^{2+} (Llinas & Nicholson, 1975).

Ионы кальция должны присутствовать в окружающей среде уже во время деполяризации пресинаптического волокна (рис. 151).

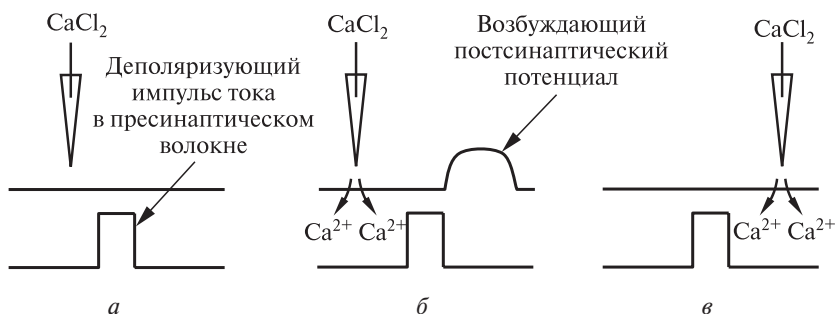


Рис. 151. Постсинаптические потенциалы в нервно-мышечном синапсе:

а — деполяризация пресинаптического волокна в отсутствие Ca^{2+} (ПСП отсутствуют); *б* — ионофоретическая аппликация Ca^{2+} предшествует деполяризации пресинаптического волокна (ПСП возникают); *в* — ионофоретическая аппликация Ca^{2+} происходит после деполяризации пресинаптического волокна (ПСП отсутствуют)

Лишь в этом случае синаптическая передача имеет место. Если искусственно (ионофоретически) обеспечить подачу Ca^{2+} во внеклеточную среду непосредственно после деполяризующего импульса в пресинаптическом волокне, то постсинаптических потенциалов не будет. Прямое введение ионов кальция в пресинаптическую терминаль значительно усиливает выделение медиатора в синаптическую щель.

2.4.2. КВАНТОВАЯ СЕКРЕЦИЯ МЕДИАТОРА

Эксперименты П. Фэтта и Б. Катца (Fatt & Katz, 1951, 1952), проведенные на нервно-мышечном препарате лягушки, позволили сформулировать *квантовую гипотезу*, согласно которой высвобождение медиатора из пресинаптического волокна происходит дискретными порциями (квантами нейромедиатора), а итоговый постсинаптический потенциал складывается из небольших, фиксированных по величине (амплитуде) элементарных событий.

В отсутствие пресинаптической стимуляции нерва, при отведении электрической активности от иннервируемой им мышцы, наблюдаются спонтанно возникающие постсинаптические потенциалы (рис. 152) с амплитудой 0,5–1 мВ – миниатюрные потенциалы концевой пластинки (мПКП).

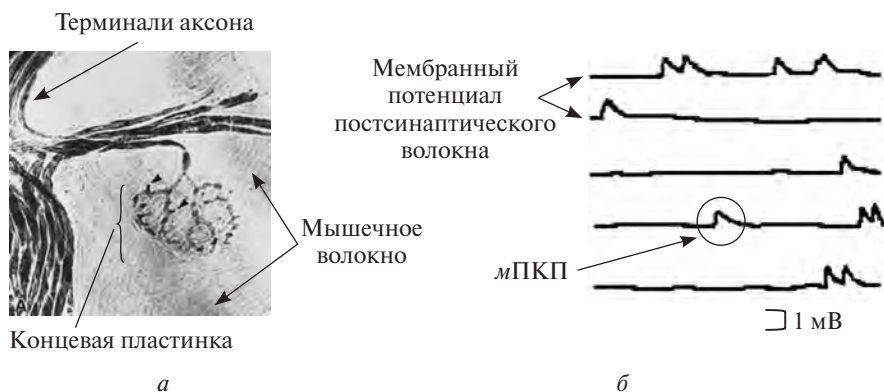


Рис. 152. Концевая пластинка (а) и регистрация миниатюрных потенциалов (б)

Их временной ход, т. е. форма, и реакция на фармакологические препараты совпадают с ПКП, возникающими при стимуляции нерва. При этом частота появления мПКП возрастает при деполяризации пресинаптического окончания. Они также исчезают при денервации мышцы и вновь появляются после ее реинервации.

Медиатором в нервно-мышечном синапсе лягушки является ацетилхолин; мПКП увеличиваются и удлиняются при действии ингибиторов ацетилхолинэстеразы (фермента, расщепляющего излишки и не связавшиеся с рецептором молекулы ацетилхолина), например простигмина, и исчезают при обработке препарата *d*-тубокурином (блокатором рецепторов ацетилхолина).

Совокупность экспериментальных данных позволила заключить, что мПКП вызываются случайным высвобождением дискретных количеств медиатора (ацетилхолина) из нервного окончания.

Фиксированная величина спонтанных ПКП может быть обусловлена квантованием реакций рецепторов на отдельные молекулы медиатора. Однако Дж. дель Кастильо и Б. Катц (del Castillo & Katz, 1957) не обнаружили квантованных реакций рецепторов, сходных с мПКП, при электрофоретической аппликации ацетилхолина, порции которого зависели от тока, подаваемого на электрод. Сдвиг постсинаптического потенциала под дей-

ствием небольшого количества молекул ацетилхолина оказался намного меньше сдвига, соответствующего одному *м*ПКП (0,5 мВ).

Элементарным событием, изменяющим ионную проводимость постсинаптической мембраны, является взаимодействие двух молекул ацетилхолина с одиночным рецептором к данному медиатору. Б. Катц и Р. Миледи (Katz & Miledi, 1971, 1972) оценили величину потенциала, возникающего при открытии одного ионного канала, управляемого ацетилхолином в 0,3 мкВ. Следовательно, *м*ПКП представляет суммарный результат не менее 1 тыс. таких элементарных деполяризаций.

Использование методики локальной фиксации потенциала показало, что количество тока, протекающего через одиночный рецептор к ацетилхолину, должно вызвать деполяризацию постсинаптического волокна на 1 мкВ.

Принимая во внимание, что далеко не все высвобождающиеся молекулы медиатора взаимодействуют с рецепторами, поскольку часть теряется в синаптической щели в результате диффузии за ее пределы и гидролиза, общее количество молекул ацетилхолина, вызывающих один *м*ПКП, должно быть не менее 10 тыс.

Оценки начала 70-х гг. XX века предполагали, что *м*ПКП вызывается мультимолекулярными пакетами, содержащими до $5 \cdot 10^4$ молекул ацетилхолина. Впоследствии оценка числа молекул в кванте несколько возросла и составила около 7 тыс. (в нервно-мышечном синапсе змей). Это количество (размер кванта) является постоянной величиной, отклоняясь от среднего значения не более чем на 10 %, а *м*ПКП — результат открытия 1300 каналов, что требует как минимум 2600 молекул ацетилхолина. Именно колебания размера кванта в сочетании с разной плотностью распределения рецепторов на постсинаптической мембране хорошо объясняют полимодальность амплитуд спонтанных постсинаптических ответов (*м*ПКП) (см. рис. 143, б).

Для того чтобы выяснить, происходит ли выделение ацетилхолина при нормальной синаптической передаче квантами или порциями, градуально изменяющимися по величине, Дж. дель Кастильо и Б. Катц (del Castillo & Katz, 1954) использовали препараты, перфузируемые раствором с низким содержанием Ca^{2+} или повышенным содержанием Mg^{2+} . В этих условиях амплитуда ПКП в ответ на стимуляцию пресинаптического волокна одиночными импульсами колебалась от 0,5 до 2,5 мВ. Минимальная отличная от нуля реакция (единичный синаптический потенциал) полностью соответствовала спонтанному *м*ПКП, а потенциалы большей амплитуды были кратны единичному потенциалу.

Распределение амплитуд ПКП, вызванных одиночной стимуляцией пресинаптического волокна, показало наличие нескольких пиков (рис. 153). Первый пик соответствует числу ПКП с амплитудой 0 мВ, т. е. реакция на стимул отсутствует, второй — числу ПКП с амплитудой, равной вели-

чине m ПКП (0,5 мВ), третий — количеству ПКП с амплитудой, вдвое большей амплитуды m ПКП, четвертый — количеству ПКП с амплитудой, втрое большей амплитуды m ПКП, и т. д.

Наличие резко выраженных ступенчатых вариаций амплитуды ПКП, а также тот факт, что средняя амплитуда единичного потенциала равна величине m ПКП, позволило предположить, что нормальные ПКП (40–50 мВ) обусловлены выделением не менее 300 квантов медиатора. При этом число освобождаемых квантов меняется от стимула к стимулу, а амплитуда ПКП, возникающих в ответ на стимуляцию, колеблется из-за случайных флуктуаций числа высвобождающихся квантов. Последнее соответствует биномиальному распределению.

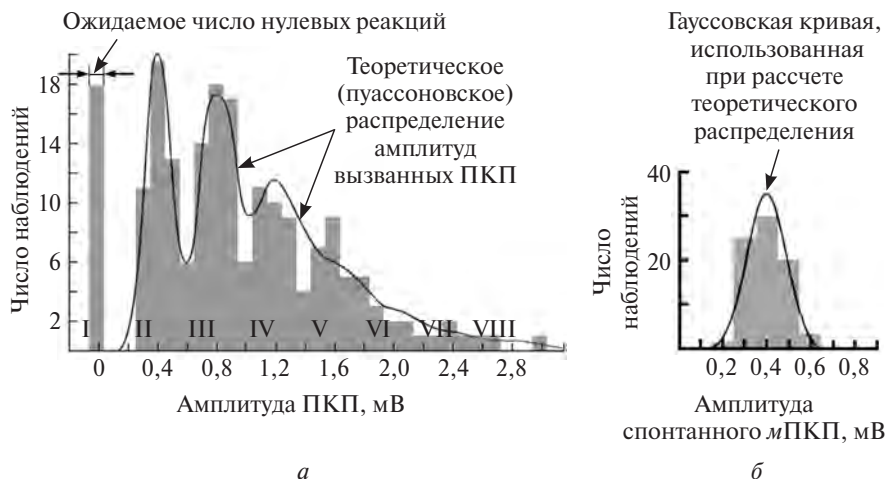


Рис. 153. Квантовый характер синаптической передачи:
 а — распределение амплитуд вызванных ПКП
 в нервно-мышечном синапсе млекопитающих;
 б — распределение амплитуд спонтанных m ПКП

В этом случае среднее число квантов t (квантовый выход), которое высвобождается последовательными стимулами и определяет ПКП, рассчитывается по формуле

$$t = n \cdot p,$$

где n — запас, из которого берутся высвобождаемые кванты; p — вероятность высвобождения для отдельных квантов ($q = 1 - p$ — вероятность того, что квант не освободится).

Квантовый выход представляет собой меру количества высвобождаемого медиатора, отражая такие особенности пресинаптических окончаний,

как их величина, число концевых веточек одного пресинаптического волокна, различия в высвобождении квантов при изменении эффективности синаптической передачи.

При $n = 5$ и $p = 0,1$ ($q = 0,9$) для серии из 100 стимулов получим, что вероятность отсутствия реакции, высвобождение одного, двух, трех, четырех и пяти квантов определяются по формуле биномиального распределения: $100 \cdot (q + p)^5 = 100 \cdot (q^5 + 5q^4p + 10q^3p^2 + 10q^2p^3 + 5qp^4 + p^5) = 59$ (нет ответа) + 33 (один квант) + 7 (два кванта) + 1 (три кванта) + 0 (четыре кванта) + 0 (пять квантов).

Итоговая формула, позволяющая предсказать вероятность той или иной реакции в случае одиночного стимула, а также ожидаемое число каждой из реакций в случае серии стимулов, такова:

$$P = \binom{n}{x} p^x q^{n-x} = \frac{n!}{(n-x)!x} p^x q^{n-x},$$

где $\binom{n}{x}$ означает число возможных выборов квантов x из совокупности в n квантов. При этом число стимулов, которые высвобождают x квантов, определяется как $N_x = N \cdot P_x$, где N — общее число стимулов.

Биномиальное распределение — двухпараметрическое, т. е. для успешного предсказания реакции системы необходимо знать как минимум два из трех (m , n , p ,) параметров. При этом наиболее надежно путем экспериментальных измерений можно определить лишь значение квантового выхода (m). Однако в ряде случаев p очень мало по сравнению с n , в частности при низких концентрациях $\text{Ca}_{\text{out}}^{2+}$. В результате биномиальное распределение можно заменить однопараметрическим *распределением Пуассона* и, зная m , описать его целиком.

Так, в случае нулевой реакции ($x = 0$) получим $P_0 = q^n$, а при очень больших значениях n имеем $P_0 = e^{-m}$, принимая во внимание, что $q = 1 - p$, а $p = m/n$.

Общая формула для расчета вероятности реакций из любого числа x единичных постсинаптических потенциалов при этом такова:

$$P_x = \frac{m^x e^{-m}}{x!}.$$

Существует несколько независимых способов оценки m :

- прямая оценка (m_1) может быть получена делением средней амплитуды постсинаптических потенциалов серии на среднюю амплитуду спонтанных мПКП (единичного синаптического потенциала);
- в случаях, когда m мало, а высвобождение распределено по времени, прямое значение квантового выхода получают, подсчитывая число квантов, высвобождаемых всеми стимулами серии, и делят его на число стимулов;

- используя распределение Пуассона и принимая $x = 0$, а также то, что $P_0 = N_0/N$, т. е. числу стимулов, когда реакция отсутствовала, деленному на общее число стимулов, m_0 может быть определено из отношения числа пресинаптических стимулов, не вызвавших реакции, к общему числу стимулов по формуле

$$m_0 = \ln \frac{N}{N_0};$$

- рассчитывая коэффициент вариации (КВ) квантового выхода по коэффициенту вариации амплитуды постсинаптических потенциалов для некоторой серии импульсов, можно оценить m :

$$KB = \frac{\sqrt{m}}{m} = \frac{1}{\sqrt{m}},$$

откуда

$$m_{KB} = \frac{1}{(KB)^2}.$$

Дисперсия (т. е. распределение вероятностей случайной величины) распределения Пуассона равна среднему значению, т. е. m , а коэффициент вариации представляет собой отношение стандартного отклонения (корень квадратный из дисперсии, или $\sqrt{m}$) к среднему значению.

Дж. дель Кастильо и Б. Катц получили схожие значения m при использовании разных методик его расчета, что послужило серьезным доказательством в пользу квантовой гипотезы.

Значения m могут колебаться в достаточно больших пределах, от 100–300, применительно к нервно-мышечным синапсам позвоночных, гигантскому синапсу кальмара, центральным синапсам моллюсков, до 2–20 в вегетативных ганглиях и до 1–3 в синапсах спинного мозга мозговых. Величина p оценивается как 0,15–0,5. Число n может также достаточно сильно варьировать — от 1000 в нервно-мышечном соединении позвоночных до 3 в одиночных окончаниях рака.

Помимо квантового высвобождения, значительное (в 100 раз большее) количество ацетилхолина просачивается во внеклеточное пространство в неквантовой форме.

Основой для этого заключения послужили сведения об отсутствии корреляции между количеством выделяемого ацетилхолина из покоящегося нервно-мышечного препарата в инкубационную среду и частотой мПКП при изменении температуры и концентрации калия. В покое лишь незначительная часть ацетилхолина (1–4 %) способна выделяться в виде квантов, остальная же часть медиатора имеет либо несинаптическое происхождение (мышечное), либо выделяется из нерва постоянно в виде утечки.

В нормальных условиях утечка медиатора не вызывает заметного постсинаптического эффекта вследствие его инактивации (гидролиза) в синаптической щели посредством ацетилхолинэстеразы. В противоположность этому благодаря субстратному ингибированию 7 тыс. молекул ацетилхолина (квант) способны преодолеть активность ацетилхолинэстеразы и обеспечить связывание с достаточным для развития постсинаптического потенциала количеством рецепторов к ацетилхолину.

Механизмы неквантовой секреции медиатора на основании характера его выделения можно разделить на две группы: пассивный, который реализуется по концентрационному или электрохимическому градиенту самого медиатора, и активный, предполагающий наличие специальных транспортных (первичных, использующих энергию гидролиза АТФ или вторичных, функционирующих за счет созданного электрохимического градиента потенциалобразующих ионов) мембранных белков-переносчиков (рис. 154).

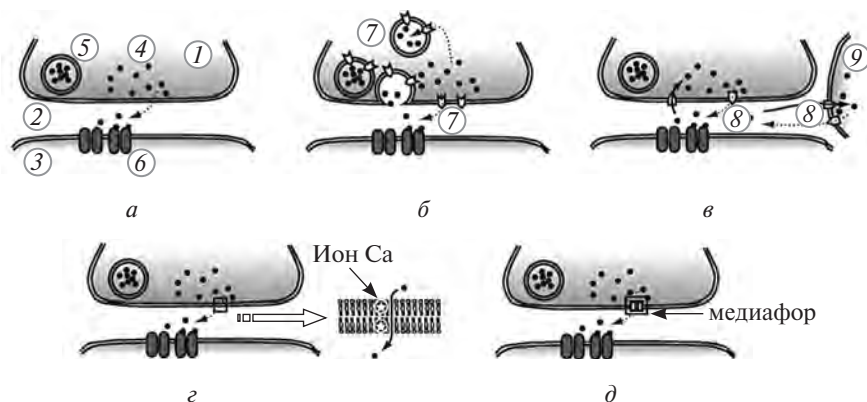


Рис. 154. Механизмы неквантовой секреции медиатора (а–д, пояснения см. в тексте) (по Маломуж, Никольский, 2010):

- 1 – нервная терминаль; 2 – синаптическая щель;
- 3 – постсинаптическая клетка; 4 – молекулы медиатора;
- 5 – синаптическая везикула с молекулами медиатора;
- 6 – постсинаптические рецепторы к медиатору;
- 7 – переносчики медиатора в везикулы;
- 8 – транспортные белки обратного захвата медиатора;
- 9 – глиальная клетка

Среди них отмечают:

- неспецифическую утечку медиатора, или диффузию, через липидный бислой мембраны по концентрационному или электрохимическому градиенту (рис. 154, а). Хорошо применима к низкомолекулярным нейронам

(NO, CO, H₂S, H₂O₂), но встречает затруднения для объяснения перемещения заряженных (катионных) нейромедиаторов;

- выделение посредством везикулярных переносчиков нейромедиатора при встраивании синаптической везикулы в мембрану нервного окончания (рис. 154, б). Теоретически может иметь место в любом химическом синапсе и не зависеть от типа нейромедиатора;

- непорционное выделение через транспортные белки систем обратного захвата медиатора, расположенных на мембране нервного окончания или клетки глии (астроцита) (рис. 154, в).

- порочитозная гипотеза (рис. 154, г) предполагает способность Ca²⁺ изменять состояние групп липидных молекул таким образом, что между отдельными липидными кластерами образуется временная пора, связывающая внеклеточную среду с содержимым синаптической везикулы. Образование этой поры и время ее жизни будут определять размер кванта и зависеть от кинетики и концентрации ионов кальция, т. е. данная гипотеза одинаково может быть применена для объяснения квантовой (невезикулярной) и неквантовой секреции нейромедиатора;

- медиаторная гипотеза тонического выделения медиатора (рис. 154, д) как следствие активности специализированного белка мембраны нервных окончаний (при этом синаптическим везикулам отводится роль хранилища нейромедиатора).

В синапсах сетчатки высвобождение медиатора происходит посредством транспортных белков мембраны пресинаптической клетки, т. е. не носит квантового характера.

Неквантово выделяемый медиатор модифицирует свойства как постсинаптической клетки, так и самого нейросекреторного аппарата. В частности, благодаря ему постсинаптическая мембрана интактного нервно-мышечного соединения немного более гиперполяризована по сравнению с другими (несинаптическими) участками плазмалеммы. Это позволяет накапливать и удерживать рецепторы к ацетилхолину (за счет электростатических взаимодействий) в области постсинаптической мембраны, что значимо для нормального функционирования нервно-мышечного контакта (нейротрофическая роль). Кроме того, выделение во внеклеточное пространство избыточного количества медиатора из пресинаптической терминали позволяет избежать возможного аллостерического ингибирования синтезирующего медиатор фермента избытком продукта (шунтирующая роль). Тем самым создается резерв передатчика, который может быть использован при резком возрастании уровня нервной стимуляции, необходимом для сокращения мышцы и реализации двигательных реакций организма.

2.4.3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ КВАНТОВОГО ВЫДЕЛЕНИЯ

При помощи электронной микроскопии было показано, что пресинаптические нервные терминалы содержат большое количество мелких органелл — синаптических пузырьков (везикул). Биохимически было установлено, что большая часть внутриклеточного ацетилхолина и адреналина оказывается связанной с фракцией пузырьков при субклеточном фракционировании.

Таким образом, была сформулирована везикулярная (квантово-везикулярная) гипотеза высвобождения (секреции) медиатора, согласно которой квант медиатора соответствует содержимому одного синаптического пузырька, а высвобождение везикул происходит путем экзоцитоза. В результате слияния мембраны синаптического пузырька с плазмалеммой его содержимое (медиатор) попадает в синаптическую щель.

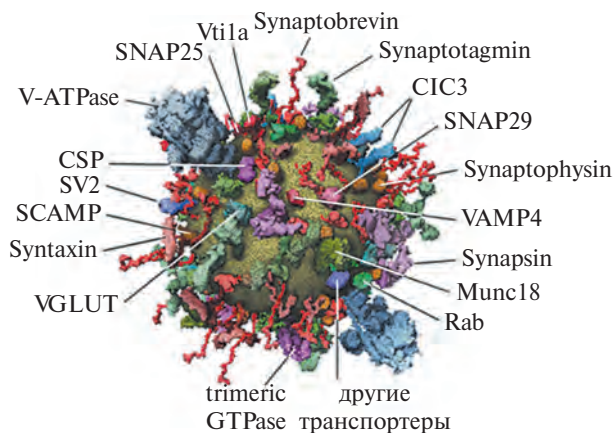
Синаптические везикулы являются самыми распространенными транспортными органеллами тела человека. Их общее число составляет порядка 10^{16} — 10^{17} и на них приходится ~4 % от общего содержания белка мозга.

Этот расчет строится на допущении, что из ~100 млрд нейронов каждый формирует ~1000 синапсов, а «типичный» центральный синапс насчитывает 300—500 везикул (в ряде специализированных структур, например, моховидных волокнах мозжечка или концевых пластинках, до 1 млн).

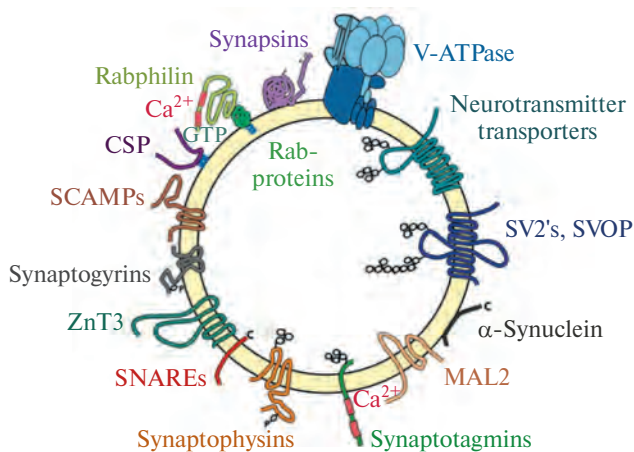
Эволюционно высококонсервативные *коровые белки* синаптических везикул насчитывают несколько типов (рис. 155), включая АТФ-азы (*V-ATPase*), везикулярные переносчики для нейромедиаторов (VGLUT, VGAT, VMAT, VACht, VEAT, VNUT), транспортеры и транспортер-подобные белки (SV2, SVOP, SV31, Znt3), белки с четырьмя трансмембранными доменами (синаптофизин, синаптогирин, SCAMPs, MAL2), синапсины, синаптотагмины, SNARE белки (синаптобrevин, SNAP25/синтаксин 1, эндосомальные SNARE), белки Rab (Rab3, Rab27, эндосомальные Rab), кошапероны SNARE (CSPa, a-synuclein), определяющие «поведение» везикулы в области пресинаптической терминали.

Со структурно-функциональной точки зрения белки синаптических везикул можно разделить на три большие группы:

- 1) **интегральные** белки мембран, участвующие в рециклизации (см. ниже) везикул;
- 2) **заякоренные** в мембране белки, обеспечивающие перенос компонентов в (из) синаптический пузырек;
- 3) **периферические** белки мембраны, наличие которых не обязательно на протяжении всего жизненного цикла везикулы.



a



b

Рис. 155. Схема расположения (a) и мембранная топология (б) ряда коровых белков синаптических везикул (по Pfaff & Volkow, 2016)

Согласно данным протеомики, помимо коровых, насчитывается более чем 400 белков, ассоциированных с синаптическими везикулами.

При анализе любого электронно-микроскопического изображения (см. рис. 57, 65, 68, 70) пресинаптической области несложно заметить, что синаптические везикулы находятся на разном расстоянии от собственно пресинаптической мембраны (активной зоны синапса).

Различают несколько резервуаров (пулов) синаптических везикул (рис. 156):

- *легко высвобождаемую фракцию (readily releasable pool)*, на долю которой приходится 0,1–2 % от их общего числа в терминале. Вступают в контакт с мембраной активной зоны синапса, будучи готовы к немедленному высвобождению. Невысвободившиеся везикулы быстро обмениваются на синаптические пузырьки рециркулирующего пула;

- *рециркулирующую фракцию (recycling pool)*, на долю которой приходится 5–20 % от общего числа везикул, способных к быстрому обмену с фракцией синаптических пузырьков активной зоны;

- *резервную фракцию (reserve pool)*, на долю которой приходится подавляющее большинство везикул (80–95 % от их общего числа). Расположена примерно в 200–500 нм от активной зоны синапса.

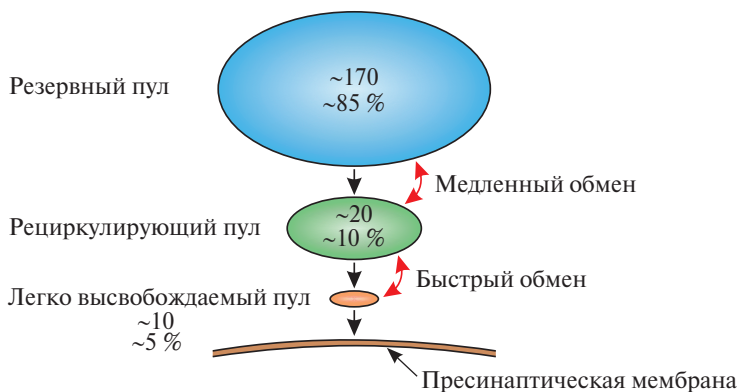


Рис. 156. Резервуары синаптических везикул в нервных волокнах гиппокампа (по Rizzoli & Betz, 2005). Числа отражают количество синаптических везикул в пуле и их процентное содержание от общего представительства в пресинаптической терминале

Работы Дж. Хаузера и Т. Риза 70–80-х гг. XX века (Heuser & Reese, 1973, 1979) обнаружили сильную корреляцию между количеством опорожнений везикул и временным ходом квантового высвобождения медиатора. Развитие методов флуоресцентной микроскопии позволило прямо наблюдать движение везикул внутри клетки, их скопление и последующее слияние с мембраной пресинаптического волокна, сопровождаемое переходом флуоресцируемого содержимого в синаптическую щель.

Уменьшение количества синаптических пузырьков при электрической стимуляции нервного волокна (рис. 157) происходит параллельно с увеличением площади поверхности аксона (рис. 158).



Рис. 157. Квантовый характер синаптической передачи:
а — контрольные условия; *б* — через 15 мин после стимуляции волокна
с частотой 20 ГЦ; *в* — через 1 ч после прекращения стимуляции
(по Николлсу и др., 2003)

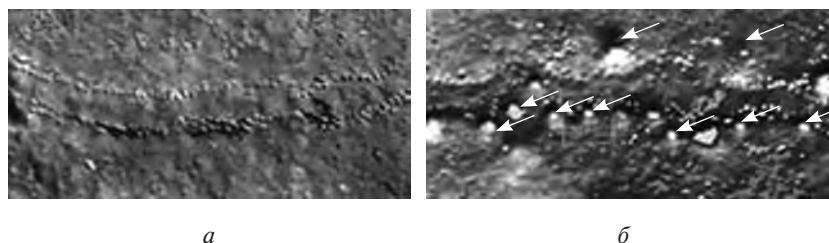


Рис. 158. Экзоцитоз синаптических везикул (по Николлсу и др., 2003):
а — контрольные условия (вид на пресинаптическую мембрану
со стороны синаптической щели); *б* — через 5 мс после стимула
(участки слияния везикул с мембраной пресинаптической
терминали отмечены стрелкой)

Это послужило основанием для предположения о включении мембраны везикулы в состав плазмалеммы (Hurlbut & Ceccarelli, 1974). Впоследствии мембрана синаптического пузырька используется повторно при образовании новых везикул (рециклизация). Полный цикл от момента слияния везикулы с мембраной клетки до формирования новых синаптических пузырьков занимает менее одной минуты (рис. 159).

Усиление стимуляции пресинаптической терминали приводит к увеличению времени круговорота везикул.

При исследовании экзоцитоза в хромаффинных клетках был предложен новый механизм поведения синаптических пузырьков, названный *kiss-and-run* (поцеловал и убежал). Соединение везикулы с мембраной сопровождается формированием небольшой временной поры (*transient pore*), через которую часть содержимого синаптического пузырька устремляется

наружу (рис. 159, 2–4B). Впоследствии пора закрывается и везикула отходит внутрь клетки. При этом не происходит инкорпорирования мембраны синаптического пузырька в плазмалемму.

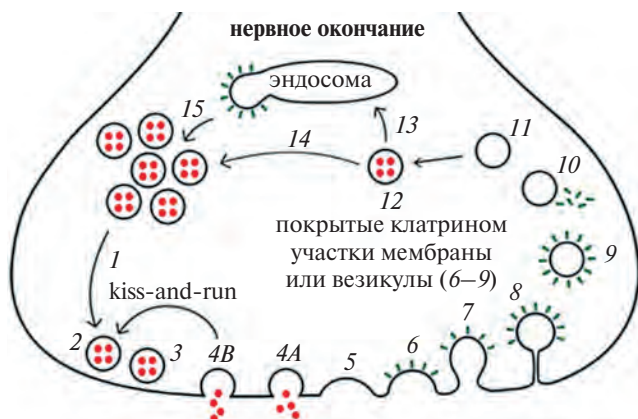


Рис. 159. Цикл синаптических везикул (по Pfaff & Volkow, 2016).

Везикулы перемещаются (1) из резервного пула в активную зону синапса, где они прикрепляются (2) и подготавливаются к разрядке (3).

Высвобождение медиатора может происходить либо за счет экзоцитоза (4A), либо за счет механизма «поцеловал и убежал» (4B).

При экзоцитозе (4A) синаптический пузырек встраивается в пресинаптическую мембрану (5) и в последующем покрывается клатрином в участках, примыкающих к активной зоне синапса (6), которая затем инвагинирует (7), сужается (8) и в итоге отщепляется, формируя окаймленные везикулы (9). Затем клатриновая оболочка удаляется (10) и неокaimленная везикула (11) наполняется медиатором (12), возвращаясь в эндосому (13) или пополняя пул рециркулирующих синаптических везикул (14), куда также поступают новые «отпочковывающиеся» от эндосомы синаптические пузырьки (15)

Известно о существовании механизма *kiss-and-stay* (поцеловал и остался), когда открытие и последующее закрытие поры не сопровождается отхождением синаптической везикулы от пресинаптической мембраны.

2.4.4. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ ВЫДЕЛЕНИЯ МЕДИАТОРА

Секреция нейромедиатора осуществляется в специализированных областях, прилегающих к пресинаптической мембране — активной зоне (зонах) синапса, белки которой создают нечто вроде трехмерной сети филаментов, организующей данный процесс (см. также подразд. 1.3). Полагают,

что число мест высвобождения синаптических пузырьков на плазмалемме пресинаптического волокна постоянно, однако доля «заряженных» везикулами участков мембраны может изменяться. Процесс «зарядки» мембраны синаптическими пузырьками называют *мобилизацией*, а процесс освобождения содержимого везикулы — *разрядкой* (высвобождением).

Вероятность высвобождения медиатора (p) состоит из вероятности перехода синаптического пузырька в место высвобождения и вероятности того, что потенциал действия высвободит квант (содержимое везикулы) из активного участка.

Везикула в активной зоне последовательно проходит три этапа (рис. 160):

- **связывание** (*docking*) — фиксация в районе активной зоны;
- **подготовка** (*priming*)¹ — включает молекулярные перестройки белков синаптической везикулы и активной зоны;
- **слияние** (*fusion*) — формирование поры и встраивание мембраны везикулы в плазматическую мембрану, сопровождаемое выходом нейромедиатора.

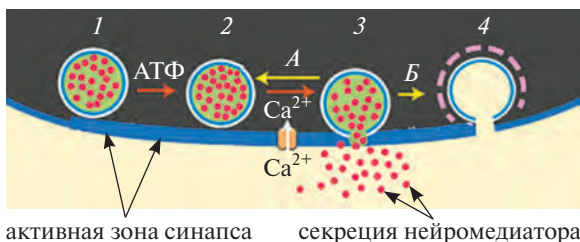


Рис. 160. Экзоцитоз синаптических везикул

(по Т. С. Südhof & J. Rizo, 2011):

A — kiss-and-run (*kiss-and-stay*); *B* — экзоцитоз;

1 — связывание (*docking*); *2* — подготовка (*priming*);

3 — слияние (*fusion*); *4* — формирование окаймленной везикулы

(на краю или за пределами активной зоны)

В 80-х гг. XX века было открыто семейство белков (*синапсинов*), ассоциированных с мембраной синаптических пузырьков. Это фосфопротеиды, способные взаимодействовать с большим количеством внутриклеточных белков, в том числе актином и нейрофиламентами, микротрубочками (тубулином), кальмодулином, спектрином, синтаксином и др.

Существует шесть изоформ синапсинов: I (Ia, Ib), II (IIa, IIb) и III (IIIa, IIIb). Они различаются по регуляторному влиянию, оказываемому на них Ca^{2+} . Синапсин I активируется ионами кальция, синапсин II — Ca^{2+} -независимый бе-

¹Слово *priming* в переводе с английского означает «вставление запала (взрывателя)».

лок, а синапсин III угнетается в присутствии ионов кальция. Таким образом, три изоформы синапсинов обеспечивают разнообразные типы Ca^{2+} -регуляции в пресинаптической области.

Прикрепляя везикулы к элементам цитоскелета, синапсины препятствуют их свободному перемещению в пределах нервной терминали. Фосфорилирование указанных белков (синапсина I) посредством Ca^{2+} -зависимых протеинкиназ приводит к отделению синаптических пузырьков от цитоскелета, увеличивая квантовый выход. Помимо этого, синапсин I вовлечен в процессы переноса везикул из одной субпопуляции (пула) в другую.

Фиксацию (*docking*) синаптических везикул непосредственно в активной зоне синапса обеспечивают белки семейства **Rab** (свыше 60 представителей у млекопитающих), являющиеся ГТФ-связывающими белками, взаимодействующие с **эффекторными белками Rab** плазматической мембраны. Гидролиз ГТФ вызывает изменение конформации белка Rab и диссоциации его комплекса с эффектором. Примечательно, что одних Rab белков недостаточно для фиксации синаптической везикулы — требуется из взаимодействие как со SNARE белками, так и с регуляторными протеинами активной зоны (например, *munc18-1*).

Процесс высвобождения медиатора начинается с образования комплекса между белками везикулярной мембраны (*v*-SNARE, *v* — *vesicle*) и белками активной зоны пресинаптической терминали (*t*-SNARE, *t* — *target*), который удерживает синаптический пузырек в определенном положении и способствует слиянию мембран в присутствии Ca^{2+} — *gunomeza* SNARE, предложенная Т. Солнером и Дж. Ротманом (Sollner & Rothman, 1994).

Б. Катц и Р. Миледи (Katz & Miledi, 1969) первыми постулировали, что присутствие ионов кальция увеличивает вероятность высвобождения медиатора, облегчая мобилизацию везикул и слияние их с плазмалеммой. Предполагалось, что ионы кальция изменяют пресинаптическую мембрану таким образом, что на ее внутренней стороне увеличивается количество мест для разрядки синаптических пузырьков. При этом для освобождения одного кванта требуется от 1 до 4 ионов кальция.

Важная роль в процессе слияния везикул с плазмалеммой отводится растворимым белкам цитозоля (см. далее):

- **NSF** (*N-ethylmaleimide sensitive factor* — фактор, чувствительный к N-этил-малеимиду), обладающему АТФазной активностью и обеспечивающему соединение мембран (везикулы и плазматической) в присутствии связанных с ними адапторных (*adaptor*) белков семейства SNAP;

- **семейство SNAP** (*soluble NSF attachment proteins*, растворимые белки, прикрепленные к NSF). Белки, способные выступать в качестве рецепторов к SNAP, SNARE-белки (от **SNAP receptors**) расположены как в цитоплазматической мембране (*t*-SNARE), так и в мембране везикул (*v*-SNARE).

В настоящее время разделение на *v*- и *t*-SNARE белки несколько устарело, так как эта терминология не в полной мере отражает особенности (различия) молекулярной (структурной) организации таких белков в пределах одной группы (см. далее по тексту). Кроме того, белки семейства SNAP (SNAP-25) обладают структурным сходством с *v*- и *t*-SNARE, что создает путаницу при использовании этих терминов.

К семейству SNARE относятся небольшие (10–35 кДа) белки с относительно просто организованным специфичным доменом, содержащим высококонсервативную последовательность из 60–70 аминокислот — *SNARE мотив*, являющуюся не только общим структурным элементом всех белков семейства, но и образующую его каталитическое ядро (*catalytic core*). На основании доминирующих в составе SNARE мотива аминокислот белки семейства разделяют на две группы (рис. 161, а):

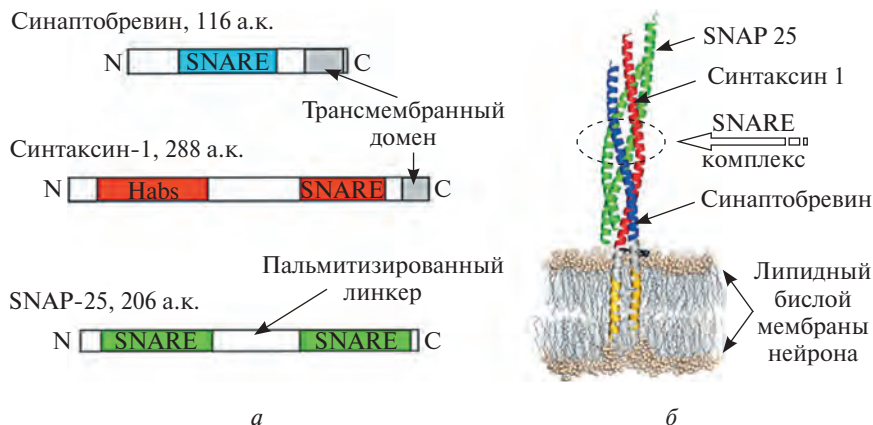


Рис. 161. Схема молекулярной организации нейронных SNARE белков (а) и SNARE комплекса (б) (по Pfaff & Volkow, 2016)

- **R-SNARE** — содержит единичный SNARE мотив, включающий последовательности аргинина (R) и короткий N-концевой участок, существует две нейронные изоформы;

- **Q-SNARE** — преобладает глутамин (Q), дополнительно выделяют **Qa**, **Qb** и **Qc** SNARE белки, имеющие некоторые структурные отличия. В частности, **Qa**-SNARE содержит единичный SNARE мотив, а его длинный N-концевой участок образует трехспиральный пучок (домен Habs), представлен двумя нейронными изоформами. Для **Qbc**-SNARE характерно наличие двух SNARE мотивов, соединенных пальмитизированным линкером.

Белки, содержащие SNARE мотив, могут объединяться в скрученный спиралью 4-цепочечный SNARE комплекс (рис. 161, б). Все SNARE ком-

плексы, участвующие в процессе слияния органелл с мембраной клетки, имеют следующий состав SNARE мотивов: **QaQbQcR**. В случае нейронного комплекса синаптобrevин привносит R-SNARE, синтаксин — Qa-SNARE, а SNAP-25 — Qb и Qc-SNARE мотивы соответственно.

Токсины возбудителей столбняка (*Clostridium tetani*) и ботулизма (*Clostridium botulinum*) являются протеазами, специфически разрушающими компоненты SNARE комплекса и предотвращающими высвобождение нейромедиатора из нервного окончания, т. е. инактивирующими синаптическую передачу.

Синаптобrevин входит в состав мембраны синаптического пузырька и известен также как **VAMP** (vesicle associated membrane protein, белок, ассоциированный с мембраной везикулы) — первый из охарактеризованных белков, участвующих в слиянии мембран (1992). Взаимодействует с находящимся в плазмалемме **синтаксином-1** и белком **SNAP-25** (synaptosomal associated protein, белок, ассоциированный с синаптосомами, *M(r)* 25 кДа), прикрепленным к мембране своим пальмитизированным фрагментом.

Положение Nabs домена синтаксина-1 определяет его нахождение в закрытой, не способной к связыванию с SNAP-25 или синаптобrevином (т. е. формированию SNARE комплекса) или открытой конфигурации и регулируется посредством белков активной зоны: **Munc 18** (относится к белкам семейства SM, т. е. Sec1/Munc18) и **Munc 13** (способен образовывать комплексы с Rab белками везикулы). Первый из них (Munc 18) образует комплекс с синтаксином-1, фиксируя его в закрытой конформации, а взаимодействие комплекса синтаксин— Munc 18 со вторым (Munc 13, а также ГТФ-связывающей, Rab3a-взаимодействующей молекулой (GTP-binding protein, Rab3a interacting molecule, RIM)) приводит к переходу синтаксина-1 в открытую конформацию и обеспечивает возможность его взаимодействия с другими SNARE белками.

Когда три SNARE белка оказываются в взаимной близости друг от друга, их содержащие SNARE мотивы спирали выстраиваются параллельно друг другу и формируют SNARE комплекс. Его образование начинается с N-концевого участка и продолжается к С-концу, формирует «застежку-молнию» (*zippering*), что приводит к возникновению механических сил, сближающих мембраны (везикулы и пресинаптической) друг с другом (рис. 162).

В механизмах Ca^{2+} -зависимого экзоцитоза, т. е. в случае секреции нейромедиатора, важная роль отводится **синаптотагмину**, интегральному белку мембраны синаптического пузырька, выступающему в роли Ca^{2+} -сенсора, предотвращающего слияние везикул и плазмалеммы в отсутствие Ca^{2+} и усиливающего экзоцитоз при поступлении Ca^{2+} внутрь клетки (синаптотагмин способен взаимодействовать с SNARE белками везикулярной и плазматической мембран). Малый (~10 кДа) растворимый регулятор-

ный белок **комплексин** (*complexin*) способен взаимодействовать с SNARE комплексом, переводя его в метастабильное состояние, предшествующее связыванию Ca^{2+} с синаптотагмином.

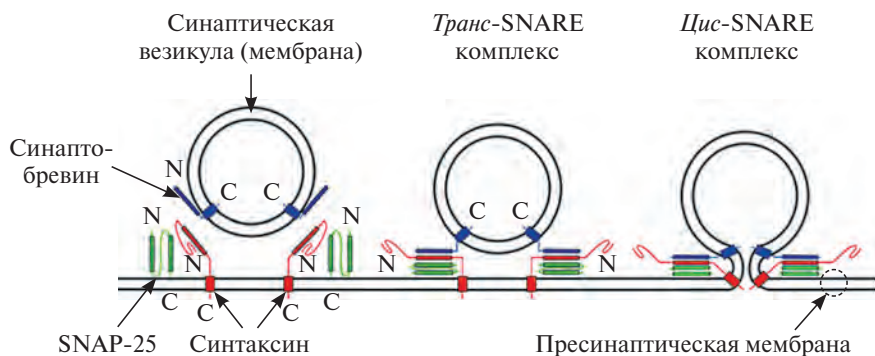


Рис. 162. Схема образования SNARE комплекса (по Pfaff & Volkow, 2016)
В *транс*-конформации белки находятся в составе оппозиционных мембран,
а при *цис*-конформации они закреплены в единой мембране

Поступление ионов кальция в пресинаптическую терминаль является следствием открытия потенциалчувствительных Ca^{2+} -каналов вследствие вызываемой потенциалом действия деполяризации нервного окончания. Эти Ca^{2+} -каналы имеют участки для связывания с синтаксином, SNAP-25, синаптотагмином, позволяя расположить связанные везикулы в участках входа кальция в клетку, т. е. там, где его концентрация будет достигать максимальных значений.

Ca^{2+} -зависимая модификация синаптотагмина приводит к переходу SNARE комплекса из *транс*- в *цис*-конформацию (см. рис. 162), что открывает возможность для слияния мембран и высвобождения медиатора (формирование полной «застежки-молнии» стерически затруднено до момента полного слияния мембран друг с другом). Диссоциация SNARE комплекса происходит под влиянием NSF и SNAP. При этом SNAP выступает в качестве связующего (*adaptor*) белка, передающего энергию конформационного превращения обладающего АТФазной активностью NSF к *цис*-SNARE комплексу, восстанавливая «независимость» и «самостоятельность» его компонентов, завершая таким образом процесс разрядки везикулы (рис. 163).

В механизмах экзоцитоза, происходящего по принципу *kiss-and-run* (поцелуй и беги), может быть задействован белок *синаптофизин* (p38), сходный по строению с белками щелевых контактов — коннексинами. В этом случае речь может идти об образовании трансмембранного канала, через который содержимое синаптического пузырька попадет в межклеточную среду. В режиме *kiss and run* синаптический пузырек может располагаться на вершине Ca^{2+} канала

пресинаптической мембраны. В присутствии Ca^{2+} формируется временная пора в липидном слое для высвобождения нейромедиатора (*гипотеза пороцитоза*) — не происходит интеграции мембран синаптического пузырька с пресинаптической плазматической мембраной и «соединения» их составляющих белков в каждой точке контакта. Согласно еще одной гипотезе, не находящей, впрочем, широкой поддержки, трансмембранные домены синаптобревина и синтаксина могут формировать белковый канал, соединяющий мембраны везикулы и плазмалеммы на манер коннексонов щелевых соединений.

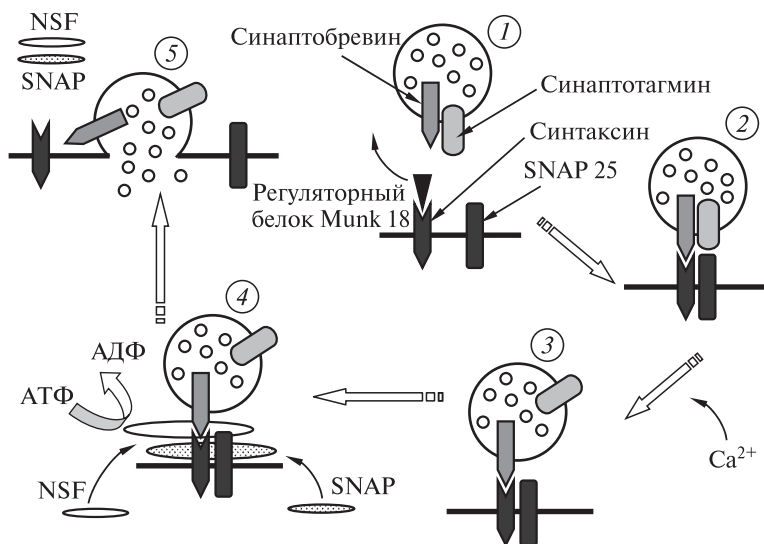


Рис. 163. Упрощенная схема слияния синаптических пузырьков с мембраной

Таким образом, выделению медиатора в синаптическую щель предшествует целый каскад биохимических превращений, требующих временных затрат. В результате при химической передаче сигнала происходит *синаптическая задержка*, определяемая как временной интервал между приходом нервного импульса в пресинаптическое окончание и началом постсинаптического ответа, т. е. реакция постсинаптической клетки (постсинаптический потенциал) наблюдается спустя некоторое время (около 1 мс) после окончания развития потенциала действия в пресинаптическом волокне.

ФАРМАКОЛОГИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ



3.1. РЕЦЕПТОРЫ И МЕДИАТОРЫ

После утверждения нейронной теории основное внимание нейрофизиологов должно было сосредоточиться на участках контакта нейронов друг с другом. В 1897 г. Ч. С. Шеррингтон (C. S. Sherrington, 1857–1952) для обозначения области специализированного функционального контакта между клетками возбудимых тканей вводит термин «синапс», а при характеристике особенностей рефлекторных дуг им же были постулированы два важнейших свойства синапса — односторонность проведения возбуждения и сопровождающая его синаптическая задержка, подтвержденные в скором времени экспериментально.

Теперь оставалось выяснить, каким именно образом осуществляется передача сигнала от клетки к клетке через область синапса. Вопрос сводился к двум гипотезам: электрической и химической.

Еще в 1846 г. Эмиль Генрих Дюбуа-Реймон (Emil Heinrich Du Bois-Reymond, 1818–1896) высказал идею о существовании межнейронных контактов, т. е. синапсов, использующих электрический или химический способ передачи сигнала. В пользу химической передачи возбуждения свидетельствовали односторонность распространения возбуждения в рефлекторных дугах (от чувствительного нейрона к двигательному), наличие синаптической задержки («чистое» электрическое распространение импульса происходит без задержки) и существование двух функционально различных типов синапсов, возбуждающих и тормозных (означающее невозможную смену полярности потенциала действия в случае электрической передачи).

На предварительной стадии развития химической гипотезы заслуживают внимания две работы. Первая принадлежит Т. Эллиоту (T. Elliott, 1904), высказавшему мысль об аналогичности действия адреналина и эффектов, связанных с активацией симпатического отдела вегетативной нервной системы, а вторая — Г. Дейлу (H. Dale, 1914), показавшему сходство между ответами на эфиры холина, в частности ацетилхолина, и реакциями парасимпатического отдела вегетативной нервной системы. Красивый и тонкий опыт О. Лёви (O. Loewi) 1921 г., посвященный исследованию нервной регуляции деятельности сердца, превратил предположение о химической

природе передачи сигнала в нервно-мышечном соединении в твердо установленный экспериментальный факт.

В дальнейшем химическая гипотеза была успешно распространена и на другие типы синапсов, в том числе центральные, была подкреплена целым рядом морфофункциональных наблюдений (везикулярная гипотеза высвобождения нейромедиатора).

Чарльз Скотт
Шеррингтон
(Charles Scott
Sherrington,
1857–1952)



Отто Лёви
(Otto Loewi,
1873–1961)

Интересно, что достоверная документация существования синаптической щели и везикул в пресинаптической области как основных составляющих, требуемых (используемых) при химической передаче сигнала, приходится на 1954 г.¹, а уже спустя три года в научной печати появилась статья Э. Фершпана и Д. Поттера² с доказательством существования электрической межнейронной передачи.

Понимание химической природы передатчиков межнейронных взаимодействий позволило сосредоточить усилия не только на физиологии (Дж. Эклс, 1903–1997 и Б. Катц, 1911–2003), но и на биохимии синаптической передачи, включая особенности метаболизма нейромедиаторов (У. фон Эйлер, 1905–1983), в том числе механизмов утилизации избытка передатчика в синаптической щели (Дж. Аксельрод, 1912–2004) — исследования, авторы которых в разные годы были отмечены Нобелевской премией по физиологии или медицине.

3.1.1. МЕЖКЛЕТОЧНАЯ КОММУНИКАЦИЯ И ПУТИ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ ЧЕРЕЗ МЕМБРАНУ

Клетки в составе многоклеточного организма подвержены действию многочисленных сигналов, поступающих извне. В качестве последних выступают различные химические вещества — *сигнальные молекулы*. Таким

¹ Palade G. E., Palay S. L. Electron microscope observations of interneuronal and neuromuscular synapses // Anat. Rec. 1954. P. 118, 335–336.

² Furshpan E., Potter D. Mechanism of nerve-impulse transmission at a crayfish synapse // Nature. 1957. P. 180, 342–343.

образом, для обеспечения специфичности выполняемых функций клетки должны избирательно реагировать на те или иные внешние воздействия. Это зависит прежде всего от того, обладает или нет клетка специальными структурами, способными взаимодействовать с теми или иными молекулами, т. е. *рецепторами*. В отсутствие рецептора клетка остается безучастной к внешнему сигналу.

П. Эрлих (P. Ehrlich) сформулировал эту особенность следующим образом: “*corpora non agunt nisi fixata*” (вещество не действует, не будучи связанным).

Основа рецепторной теории была заложена пионерскими работами П. Эрлиха (1854–1915) и Дж. Ленгли (J. N. Langley) (1852–1925). Разрабатывая основы химиотерапии (1900), П. Эрлих обратил внимание на то, что синтетические органические вещества, несмотря на структурное сходство, обладают разной антипаразитарной эффективностью. Работы Дж. Ленгли (1905) показали, что мышечное сокращение, вызываемое прямой электрической стимуляцией мышцы, сохраняется при действии кураре, в норме способного блокировать сокращение, опосредованное действием никотина (агонист ацетилхолина).

Справедливости ради заметим, что идея о существовании на поверхности клеток специфических структур, ответственных за действие веществ, просматривается и в более ранних работах П. Эрлиха и Дж. Ленгли.

Большинство рецепторов представлено белками, поскольку именно благодаря различным способам укладки полипептидной цепи может быть обеспечено необходимое разнообразие и специфичность формы, определенный электрический заряд на поверхности. В качестве рецепторов могут выступать регуляторные, транспортные, структурные белки, а также ферменты. Обладая лимитированным числом рецепторов, клетка ограничивает количество молекул, способных изменить ее активность. Тем не менее даже немногочисленные сигналы могут обеспечить составной характер ответной реакции, которая проявляется следующим образом:

- одно и то же вещество, связываясь с одним и тем же типом рецептора, вызывает различные эффекты в клетке-мишени: изменение формы, метаболизма, уровня экспрессии генов и т. п.;
- как правило, внешний сигнал передается внутрь через систему вторичных посредников, различающихся от клетки к клетке. Кроме того, различны и конечные внутриклеточные мишени действия сигнальных молекул. В результате одно и то же вещество вызывает неодинаковый физиологический эффект;

Так, ацетилхолин вызывает уменьшение частоты сердечных сокращений, но усиливает продукцию секрета слюнными железами.

- поскольку клетка располагает разными рецепторами, она способна одновременно реагировать на многие сигналы. При этом даже относительно небольшое количество сигнальных молекул создает возможность разнообразных комбинаций, контролирующих поведение клетки, например взаимное ослабление или усиление ее активности.

Существование различных типов рецепторов также способствует разнообразию реакций клеток. Хорошо известна способность ацетилхолина вызывать сокращение скелетной мускулатуры (*n*-холинорецепторы) в противоположность уже упомянутому урежению сердечных сокращений (*m*-холинорецепторы).

Важнейшим этапом, контролирующим функцию клеток, является момент превращения внеклеточных сигналов во внутриклеточные. Существует две группы механизмов, обеспечивающих трансмембранную передачу сигнала. Они различаются по способности связываться с рецепторами наружной мембраны клетки: ряд сигнальных молекул связываются с ними, другие — нет.

Передача сигнала, не требующая наличия рецепторов на поверхности клетки. Относительно небольшое количество сигнальных молекул представлено веществами с низкой молекулярной массой или высокой степенью гидрофобности. В результате они достаточно легко преодолевают плазматическую мембрану за счет диффузии (рис. 164).

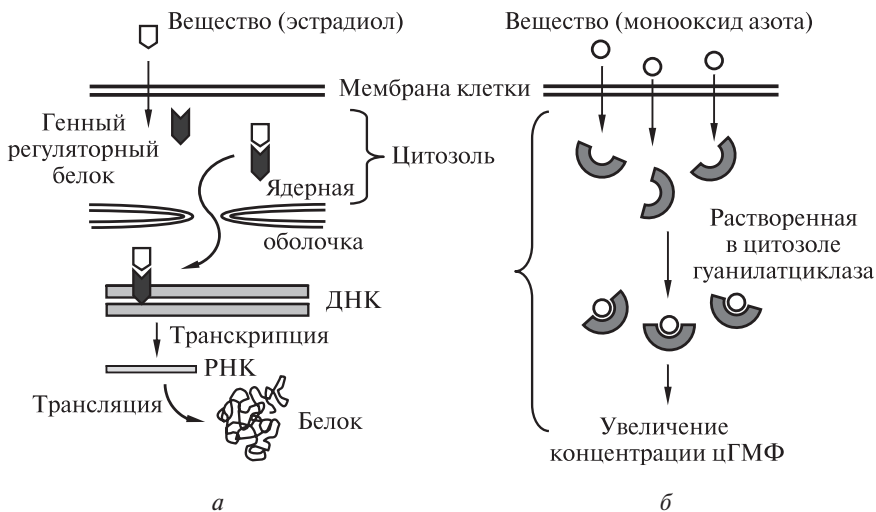


Рис. 164. Передача сигнала,

не требующая наличия рецепторов на поверхности клетки:

- а — при наличии внутриклеточного рецептора (стероидные гормоны);
- б — прямое изменение ферментативной активности (монооксид азота)

Их классификация основана на особенностях взаимодействия с внутриклеточными компонентами. Выделяют две основные группы **сигнальных молекул**:

- **взаимодействующие с внутриклеточными рецепторами.** Наиболее известными представителями являются *стероидные* (кортизол, эстрадиол, тестостерон) и *тиреоидные* (тироксин) *гормоны*.

Пройдя через плазматическую мембрану, они связываются с белками, находящимися в цитозоле или ядре. Указанные рецепторные молекулы представляют собой генные регуляторные белки (*gene regulatory proteins*), изначально находящиеся в клетке в неактивном состоянии. Под действием гормонов они претерпевают большие конформационные изменения, что приводит к их связыванию с регуляторными участками цепочки ДНК. Как следствие, инициируется или прекращается транскрипция определенных генов (см. рис. 164, *а*).

Характерными особенностями данной группы веществ являются:

- *большой латентный период действия*: видимый эффект развивается спустя некоторое время (от 30 мин до нескольких часов), затрачиваемое на синтез новых белков;

- *продолжительное действие*: развившийся эффект может сохраняться в течение нескольких часов (дней), даже после того, как концентрация действующего вещества во внеклеточной жидкости снижается до нуля;

- **напрямую изменяющие ферментативную активность белка.** Самым известным представителем этой группы является монооксид азота (NO), относящийся к группе *газообразных медиаторов/нейромодуляторов* (см. подразд. 3.3). За счет своих малых размеров NO быстро пересекает мембрану и, попадая в цитозоль, взаимодействует с гуанилатциклазой, катализирующей образование цГМФ, важнейшего внутриклеточного посредника (см. рис. 164, *б*). В отличие от гормонов эффект развивается в течение нескольких секунд и сохраняется не столь продолжительное время.

Передача сигнала, требующая наличия рецепторов на поверхности клетки.

Большинство сигнальных молекул относится к гидрофильным высокомолекулярным веществам, неспособным пересекать цитоплазматическую мембрану ни путем диффузии, ни за счет каких-либо других систем транспорта. В этом случае рецепторы пронизывают мембрану, что дает им возможность распознать сигнал на ее наружной поверхности, со стороны внеклеточного пространства, и обеспечить его передачу внутрь клетки. При этом сигнальная молекула *не переносится* через мембрану.

Различают три больших семейства таких рецепторов:

- **ассоциированные с ионными каналами (ионотропные рецепторы)** – представляют собой трансмембранные каналные белки, открытие-закрытие которых контролируется присоединением соответствующего вещества (лиганд-управляемые ионные каналы). При этом передача сигнала

происходит посредством изменения ионной проводимости мембраны. К естественным лигандам относятся многие нейромедиаторы: ацетилхолин, ГАМК, глицин и т. п. Подробное описание их строения приводится ниже (подразд. 3.2);

- **ассоциированные с мембранно-связанными G-белками (метаботропные рецепторы)** — взаимодействие с ними сигнальных молекул (таких как серотонин, ацетилхолин, пептиды и т. п.) приводит к запуску целого каскада биохимических превращений, вызывающих ответную реакцию клетки (подробнее см. далее);

- **ассоциированные с ферментами** — связывание с сигнальной молекулой приводит к изменению каталитической активности фермента со стороны цитозоля (подробнее см. далее).

Структурная организация этих рецепторов имеет ряд общих черт — внеклеточный, лигандсвязывающий, участок, трансмембранный сегмент и внутриклеточный регион, обладающий или нет ферментативной активностью.

3.1.2. РЕЦЕПТОРЫ С ПРОТЕИНКИНАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Данная группа рецепторов играет важную роль в формировании клеточного ответа на действие различных факторов роста (эпидермального, тромбоцитарного), инсулина и т. п. Большинство трофических факторов выступают в качестве тканевых регуляторов, действуя в очень низких (10^{-9} – 10^{-11} М) концентрациях. При этом клеточный ответ развивается в течение нескольких часов, поскольку связан с изменением экспрессии генов. В то же время белки внеклеточного матрикса или белки, прикрепленные к поверхности клеток, способны активировать эту группу рецепторов. В данном случае происходят быстрые перестройки цитоскелета, приводящие к изменению формы клетки.

Цитоплазматический домен рецепторного фермента обладает выраженной тирозинкиназной активностью, т. е. он катализирует реакцию присоединения высокоэнергетического фосфата (фосфорилирование) к тирозиновым участкам внутриклеточных белков, поэтому сам рецептор называют *тирозинкиназным*. У человека насчитывается более 50 представителей этого семейства, разделенных на 20 субсемейств (рис. 165).

Наличие только одного трансмембранного сегмента, представляющего собой обыкновенную α -спираль, не дает возможности реализовать конформационные изменения при связывании рецептора с лигандом. Поэтому активация тирозинкиназного рецептора осуществляется посредством другого, оригинального механизма (рис. 166).

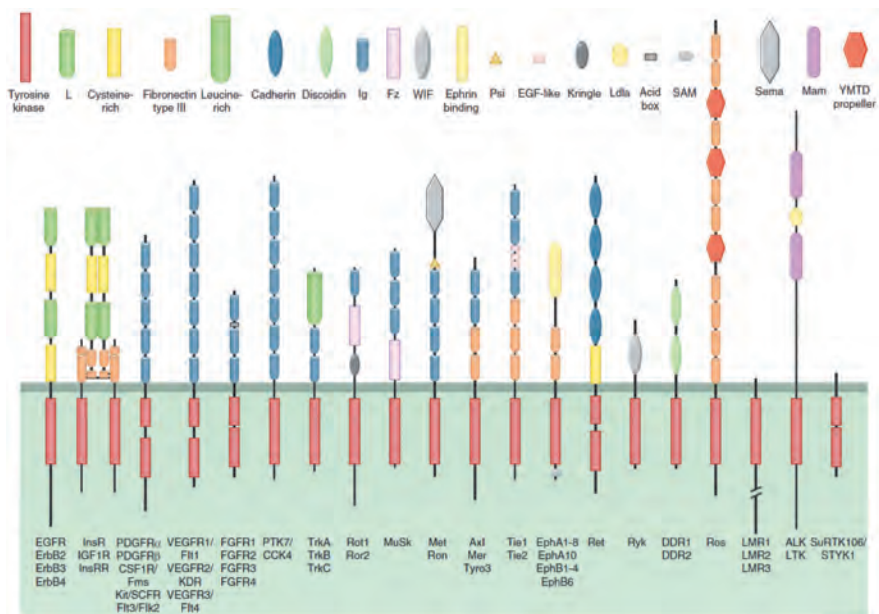


Рис. 165. Схема организации семейства тирозинкиназных рецепторов (по С.-Н. Heldin e. a., 2016)

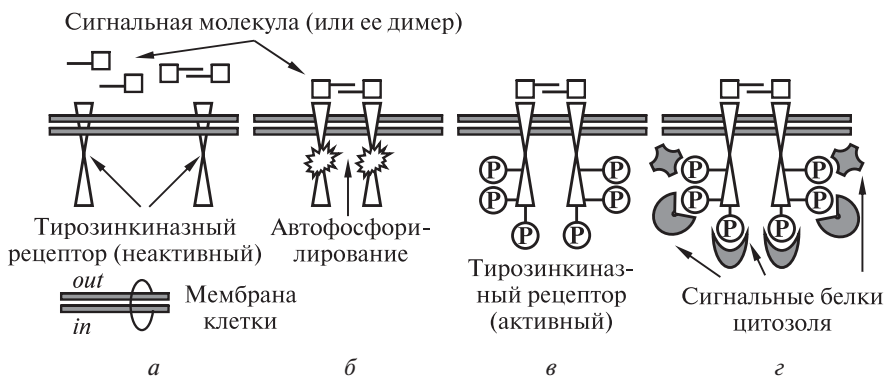


Рис. 166. Активация тирозинкиназного рецептора:
а–г — последовательные стадии процесса

Сигнальная молекула (димер сигнальных молекул) связывается с двумя рядом расположенными рецепторами, приводя к конформационным изменениям и еще большему сближению их друг с другом (рис. 167).

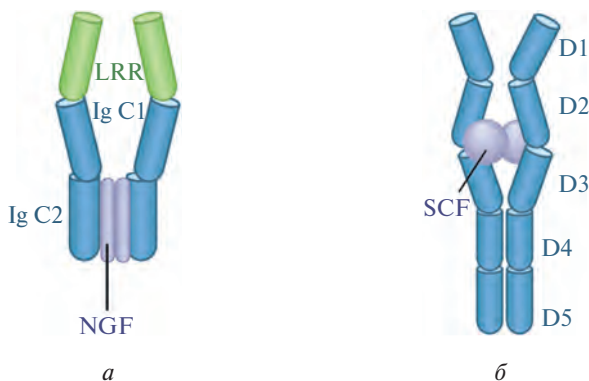


Рис. 167. Димеризация протеинкиназного рецептора
(по С.-Н. Heldin и др., 2016):

- a* – без прямого контакта рецепторов друг с другом
(при действии фактора роста нервов (*nerve growth factor*), NGF);
б – с формированием рецептор-рецепторного комплекса
(при действии фактора стволовых клеток (*stem cell factor*), SCF)

Это стимулирует протеинкиназную активность, приводя к взаимному фосфорилированию рецепторов (*автофосфорилирование*). Фосфорилированные по остаткам тирозина многочисленные участки рецепторного комплекса взаимодействуют с различными молекулами (от 10 до 20), переводя последние в активное состояние. В результате сигнал распространяется в клетке по многочисленным направлениям, приводя к активации и координации множества биохимических превращений, что лежит в основе таких комплексных ответов клетки, как дифференцировка и пролиферация.

Существует два пути инактивации тирозинкиназных рецепторов:

- **посредством белковых тирозинфосфатаз**, отщепляющих фосфатные группы от цитозольных доменов рецептора;
- **посредством эндоцитоза**: при этом рецептор попросту переваривается протеолитическими ферментами лизосом.

Многие внутриклеточные посредники, активируемые тирозинкиназными рецепторами, широко представлены в разных клетках. В частности, фосфолипазы, которые активируют инозитолфосфатную систему (см. ниже). Другим важным направлением распространения сигнала является регуляция экспрессии генов.

Ряд молекул, активируемых связыванием с фосфорилированными протеинкиназными рецепторами, относятся к сопрягающим белкам (*adaptor proteins*). В результате их взаимодействия с соответствующими молекулами происходит активация последних, что приводит к связыванию расположенных на внутренней стороне плазматической мембраны небольших,

состоящих из одной субъединицы белков (*Ras*-белки) с ГТФ. При этом активированный *Ras*-белок запускает каскадное фосфорилирование протеинкиназ, последняя из которых в свою очередь фосфорилирует белок, регулирующий экспрессию генов (рис. 168).

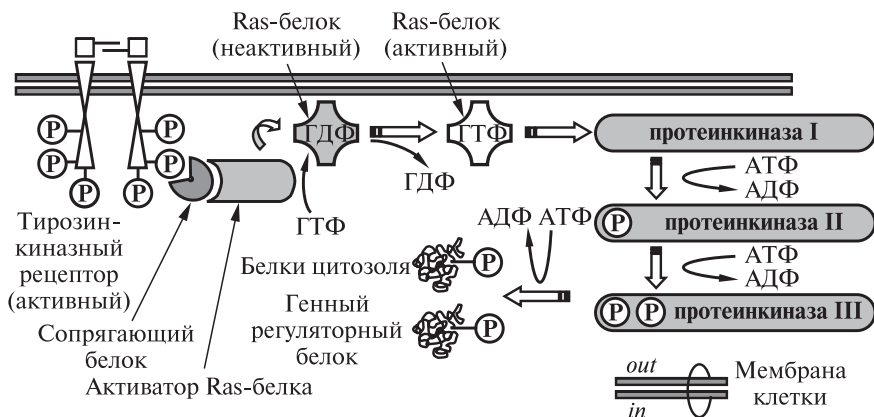


Рис. 168. Активация системы *Ras*-белков

Ras-белки представляют собой ключевое звено клеточного ответа на действие тромбоцитарного фактора роста (*platelet-derived growth factor, PDGF*), обеспечивающего пролиферацию клеток при заживлении ран, и фактора роста нервов (*nerve growth factor, NGF*), предотвращающего, в частности, гибель некоторых нейронов в ходе развития. Гиперактивность *Ras*-белков может привести к неконтролируемой клеточной пролиферации, что лежит в основе развития онкологических заболеваний. В частности, в 30 % случаев рака у человека отмечаются мутации *Ras*-генов.

3.1.3. СВЯЗАННЫЕ С G-БЕЛКАМИ РЕЦЕПТОРЫ

В начале XXI века насчитывалось свыше 2000 рецепторов, связанных с G-белками, разделенных на более 100 подсемейств в соответствии с гомологией их аминокислотных последовательностей, структурой лигандов и функциями. Около 2 % генома человека составляют гены, кодирующие связанные с G-белками рецепторы.

Структура рецептора характеризуется внеклеточным N-концевым участком, семью трансмембранными сегментами, формирующими основу рецептора, тремя петлями, направленными во внеклеточное пространство, и тремя — в сторону цитозоля, а также внутриклеточным C-концевым участком (рис. 169).

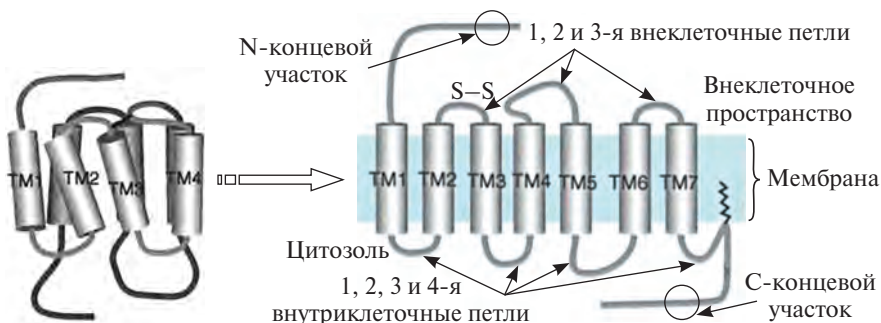


Рис. 169. Общая схема строения рецептора к G-белку (по Ji e. a., 1998)

Третья внутриклеточная петля предназначена для связывания с G-белком. Каждый из трансмембранных сегментов состоит из 20–27 аминокислот. Напротив, выраженные колебания количества аминокислотных остатков N- (7–595) и С- (12–359) концевых участков, петель (5–230) свидетельствуют о разнообразии выполняемых функций (рис. 170).

В качестве активатора рецепторов, связанных с G-белками, могут выступать нейромедиаторы (ГАМК, норадреналин, дофамин и т. п.), свет (родопсин), одоранты. Указанная группа рецепторов эволюционно очень древняя, они обнаружены даже у дрожжей.

Именно на основании структурных особенностей, опосредующих связывание с определенными лигандами, различают три класса и подсемейства рецепторов, связанных с G-белками:

- **класс А:** лигандсвязывающий участок расположен глубоко среди трансмембранных сегментов — *подсемейство 1* (нейромедиаторы, липидные медиаторы, одоранты), взаимодействует с N-концевым участком, внеклеточными петлями и трансмембранным доменом — *подсемейство 2* (пептиды, включая хемокины) или находится в области длинной внеклеточной петли — *подсемейство 3* (гормоны, включая лютеинизирующий и фолликуло-стимулирующий);

- **класс В:** активируются при действии высокомолекулярных гормонов (глюкагон, секретин, вазоактивный интестинальный пептид (*VIP*)) за счет связывания с участками длинного внеклеточного домена;

- **класс С:** включает метаботропные глутаматные рецепторы и ГАМК_B рецепторы, вкусовые и кальций-чувствительные (*calcium-sensing*) рецепторы — существуют обязательно в форме димеров и характеризуются крайне длинными N-концевыми внеклеточными участками;

Многие рецепторы А и В классов также способны образовывать гомо- или гетеродимеры.

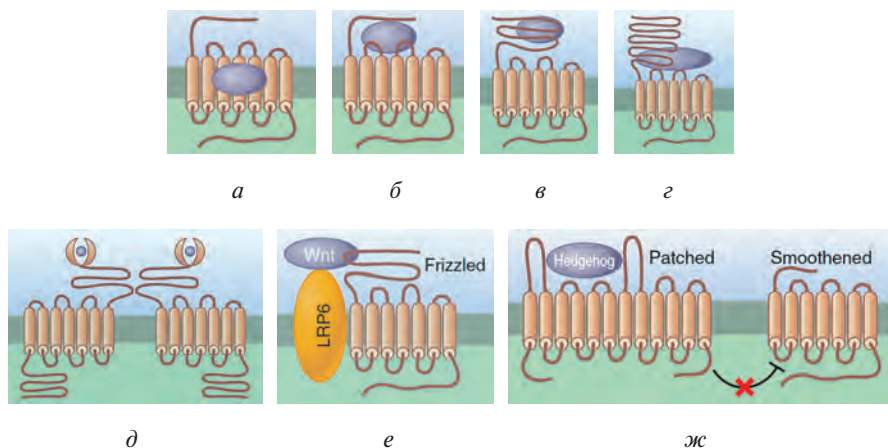


Рис. 170. Структурная организация различных классов рецепторов, связанных с G-белками (по С.-Н. Heldin и др., 2016):
 а – класс А (подсемейство 1); б – класс А (подсемейство 2);
 в – класс А (подсемейство 3); г – класс В; д – класс С;
 е – класс Frizzled (подсемейство Frizzled);
 ж – класс Frizzled (Smoothed).

Пояснения см. в тексте

• **семейство рецепторов Frizzled**: разделяется на два структурно различных подсемейства – *Frizzled* (завитые) и *Smoothed* (сглаженные) с комплексным механизмом активации. В случае с рецепторами Frizzled, они активируются белком Wnt (о его роли в развитии нервной системы см. подразд. 1.4) при взаимодействии с насыщенными цистеином участками N-концевого участка. При этом ряд вспомогательных белков (low-density lipoprotein-receptor-related protein 5, LRP5 или single-transmembrane-span proteins, LRP6) выступают в качестве корецепторов. Для рецепторов Smoothed механизм активации отличается еще большим своеобразием: связывание белка Hedgehog с рецептором Patched снимает тормозное влияние последнего в отношении рецептора Smoothed, делая его способным к восприятию внеклеточных сигналов.

Связывание сигнальной молекулы внеклеточного пространства с рецептором приводит к его конформационным изменениям, что делает возможным взаимодействие между обращенным в сторону цитозоля участком и G-белком, расположенным на внутренней стороне цитоплазматической мембраны.

Своим названием G-белки обязаны возможностью образовывать связи с гуаниновыми (G) нуклеотидами, т. е. ГТФ (GTP).

Все G-белки состоят из трех субъединиц (рис. 171): α , β , γ , из которых два последних типа образуют функциональные димеры (комплекс $\beta\gamma$). Большое количество подтипов каждой из субъединиц с разной степенью гомологии аминокислотных последовательностей, их составляющих, создает основу для различных комбинаций, обеспечивающих разнообразие выполняемых функций (у человека выделяют 16 α , 5 β , 12 γ).

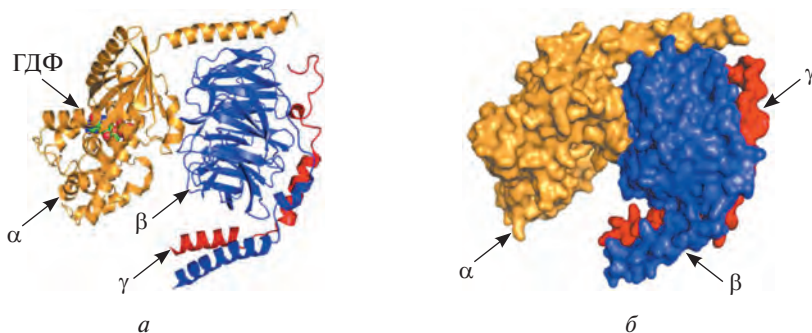


Рис. 171. Молекулярная структура тримера G-белка (по Syrovatkina e. a., 2016):
а — структура в виде лент; б — поверхностная структура

В неактивном состоянии α -субъединица G-белка связана с ГДФ, а все три субъединицы составляют единый комплекс. Взаимодействие с рецептором приводит к замещению ГДФ на ГТФ, что вызывает диссоциацию G-белка на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы (рис. 172).

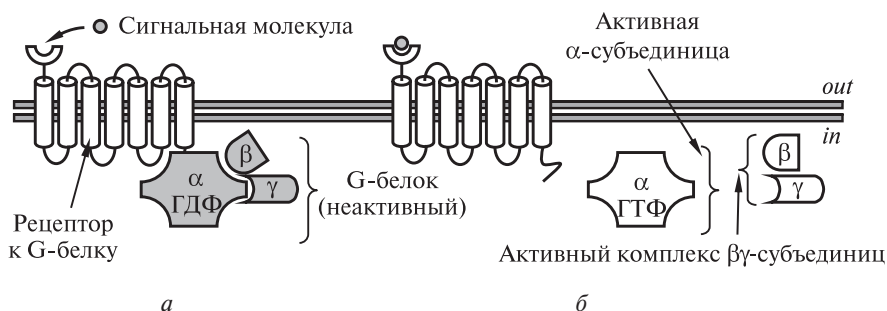


Рис. 172. Активация G-белка:
а, б — последовательные стадии процесса

Эти две составляющие способны диффундировать вдоль внутренней поверхности мембраны и напрямую взаимодействовать с белками-мишенями, локализованными в плазмалемме. Продолжительность их действия

определяется поведением α -субъединицы, обладающей ГТФазной активностью — гидролиз связанного с ней ГТФ до ГДФ приводит к обратному связыванию α -субъединицы и комплекса $\beta\gamma$ -субъединиц в единое целое (рис. 173). Это происходит спустя несколько секунд после исходной активации G-белка, замыкая цикл.

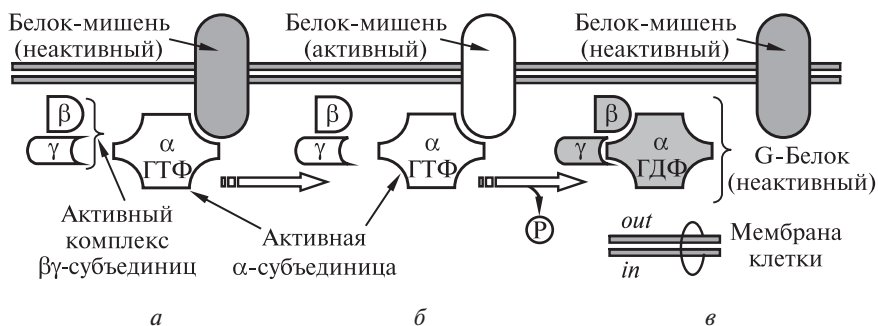


Рис. 173. Инактивация G-белка:
а–в — последовательные стадии процесса

G-белки разделяют на четыре большие группы (семейства) на основании структурных и функциональных различий их α -субъединиц: $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_q$ и $G\alpha_{12-13}$. Традиционно отмечается, что представители первых двух семейств обладают стимулирующим (*s* — *stimulation*) или ингибирующим (*i* — *inhibition*) действием в отношении аденилатциклазы, а $G\alpha_q$ активны в отношении фосфолипазы C (см. ниже). $G\alpha_{12-13}$ активируют факторы обмена гуаниновых нуклеотидов, облегчающие замену ГДФ на ГТФ в малых (*small*) G-белках (*Rho*-ГТФазы, *RhoGTPases*), которые, в свою очередь, стимулируют различные протеинкиназы. В действительности мишени действия как α -субъединицы, так и комплекса $\beta\gamma$ -субъединиц гораздо более разнообразны (табл. 5).

Эффекты G-белка определяются двумя компонентами: α - и $\beta\gamma$ -субъединицами:

- **активация посредством α -субъединицы:** в этом случае наблюдается взаимодействие с белками, связанными с мембраной, а наиболее известными мишенями являются аденилатциклаза и фосфолипаза C, определяющие функционирование системы вторичных посредников (см. п. 3.1.4);
- **активация посредством комплекса $\beta\gamma$ -субъединиц:** впервые была изучена при исследовании молекулярных основ действия ацетилхолина на сердце (рис. 174).

Связывание ацетилхолина с рецептором (*m*-холинорецептором) приводит к последующей диссоциации G-белка. Комплекс $\beta\gamma$ -субъединиц взаимодействует с цитозольным доменом K^+ -канала, увеличивая вероятность нахождения его в открытом состоянии. Как следствие, клетка гиперполя-

ризуется, увеличивается порог генерации потенциала действия и частота сердечных сокращений уменьшается. Инактивация α -субъединицы и последующая ее ассоциация с комплексом $\beta\gamma$ -субъединиц переводит калиевый канал в закрытое состояние.

Таблица 5

Молекулярные мишени действия G-белка (Syrovatkina e. a., 2016)

Тип субъединицы G-белка	Основной эффекторный белок	Дополнительные мишени
$G\alpha_s$, $G\alpha_{olf}$	Аденилатциклаза (+)	Tubulin, Calnuc, Src tyrosine kinase, axin
$G\alpha_o$, $G\alpha_{i1-3}$, $G\alpha_{t1,2}$, $G\alpha_g$, $G\alpha_z$	Аденилатциклаза (–), cGMP фосфодиэстераза (+)	Rap1Gap1, Calnuc, Src tyrosine kinase, nucleobindin 2 (NUCB2), Tubulin, Pins, Pcp1, LGN, GRIN1, Eya2, Pcp2
$G\alpha_q$, $G\alpha_{11}$, $G\alpha_{14}$, $G\alpha_{15/16}$	Фосфолипаза C- β (+), p63RhoGEF	GRK2, actin, tubulin, PI3K, TPR1, Btk tyrosine kinase, Phospholipase C- ε , TRPM8
$G\alpha_{12}$, $G\alpha_{13}$	p115RhoGEF, LARG и PDZ-RhoGEF	Gap1, rasGap, Btk tyrosine kinase, Radixin, Hax-1, Cadherins, α -SNAP, p120caterin, Integrin α IIb β 3
$G\beta\gamma$	Аденилатциклаза (+), Фосфолипаза C- β (+), Phosphoinositide 3 Kinases, G protein-coupled receptor kinases, K^+ и Ca^{2+} каналы	Btk-family tyrosine kinase, IP3 receptors, Raf kinase, Protein kinase D, Histone deacetylase 5 (HDAC5), Tubulin, F-actin, Vinculin, ElmoE, Rab11, mitofusin1, Radil, activator protein 1, TFE3, TRPM1

«+» – стимулирующий, «–» – ингибирующий эффект.

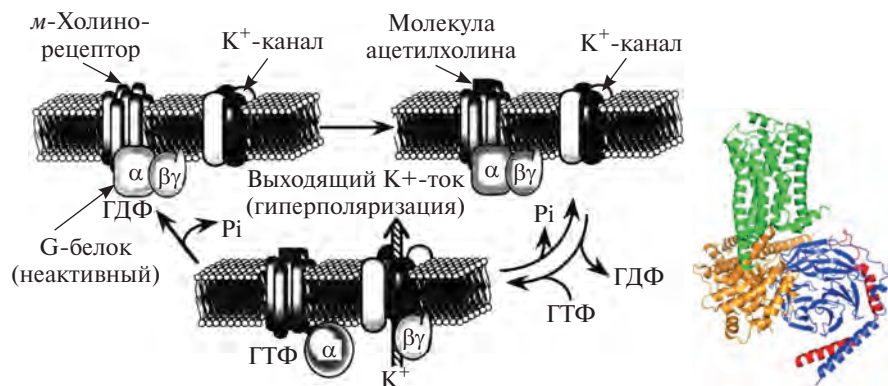


Рис. 174. Активация K^+ -каналов миокарда при действии ацетилхолина (по Yamada e. a., 1998). Цветная вставка – комплекс β_2 -адренорецептора (зеленый цвет) с тримерным G-белком, состоящим из α - (желтый), β - (синий) γ - (красный) субъединиц (по Syrovatkina e. a., 2016)

Схожая ситуация наблюдается и при активации норадренергических ауторецепторов симпатических ганглиев лягушки. В этом случае комплекс $\beta\gamma$ -субъединиц блокирует Ca^{2+} -каналы N-типа в пресинаптических терминалях, что уменьшает выброс медиатора в синаптическую щель (*отрицательная обратная связь*) и служит надежным механизмом регуляции эффективности синапса.

3.1.4. ОСНОВНЫЕ СИСТЕМЫ ВТОРИЧНЫХ ПОСРЕДНИКОВ

Субъединицы G-белка способны активировать целый спектр ферментов, катализирующих реакции образования небольших сигнальных молекул — *вторичных посредников*, называемых так в противоположность сигналам, поступающим к клетке извне (*первичные посредники*, обеспечивающие собственно гуморальные взаимодействия между клетками). Действие α -субъединицы может как стимулировать, так и ингибировать такую ферментативную активность.

Аденилатциклазная система. Аденилатциклаза располагается на внутренней стороне плазмалеммы и катализирует образование цАМФ из АТФ, которая всегда встречается в достаточном количестве внутри клетки. Под действием α_s -субъединицы G-белка концентрация цАМФ в цитозоле стремительно возрастает (эффекты $G\alpha_i$ противоположно направлены). Бесконтрольному возрастанию концентрации цАМФ препятствует действие биологического антагониста — *цАМФ фосфодиэстеразы*, катализирующей переход цАМФ в АМФ. Циклический АМФ является водорастворимой молекулой и поэтому способен свободно диффундировать в цитозоле клетки на значительные расстояния от мембраны (рис. 175). Его основной мишенью является цАМФ-зависимая протеинкиназа (А-киназа, PKA).

Открытие цАМФ (1957) и его роль как вторичного посредника в механизмах действия гормонов, в частности адреналина, связано с работами Э. У. Сазерленда (Earl Wilbur Sutherland, 1915–1974), удостоенного за них Нобелевской премии по физиологии или медицине (1971).

Присоединение четырех молекул цАМФ вызывает диссоциацию неактивного комплекса А-киназы (две субъединицы) с регуляторным белком (две R субъединицы). В результате высвобождаются две каталитические (C) субъединицы, обладающие протеинкиназной активностью. А-киназа катализирует присоединение фосфатной группы к белкам (примерно 300–500 для «типичной» клетки) по остаткам серина и треонина, вызывая изменения активности белков-мишеней, в том числе белков ионных каналов, в частности Ca^{2+} -каналов L-типа. Ограничение «всесторонней»

каталитической активности А-киназы достигается за счет ее фиксации в определенных участках клетки посредством насчитывающих 10–15 единиц, связывающих белков (*A-kinase-anchoring proteins*).

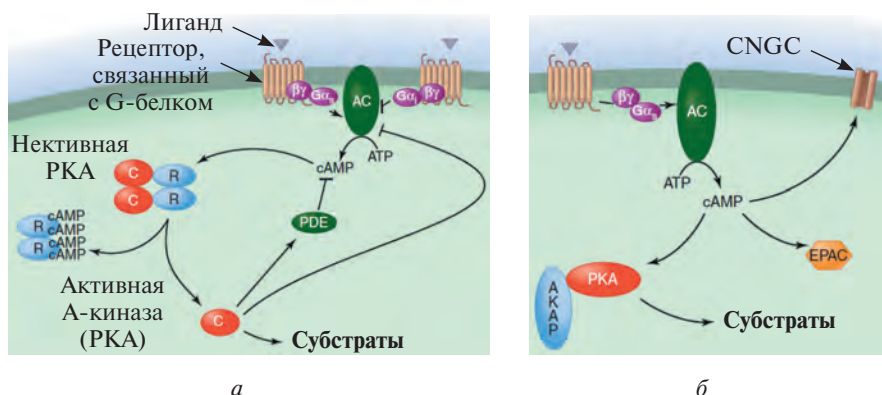


Рис. 175. Аденилатциклазная система вторичных посредников (по Newton e. a., 2016):
а — контроль посредством $G\alpha_s$ и $G\alpha_i$ субъединиц;
б — основные внутриклеточные мишени цАМФ;
AC — аденилатциклаза, AKAP — белки, связывающие А-киназу (*A-kinase-anchoring proteins*), PDE — фосфодиэстераза, EPAC — цАМФ-зависимый фактор обмена гуаниновых нуклеотидов (*cAMP-responsive guanine nucleotide exchange factor*), CNGC — управляемые циклическими нуклеотидами ионные каналы (*cyclic-nucleotide-gated ion channels*), ATP — АТФ, cAMP — цАМФ

Также цАМФ способен выступать в качестве самостоятельного сигнального эффектора (см. рис. 175, б), например в отношении управляемых циклическими нуклеотидами ионных каналов (*cyclic-nucleotide-gated ion channels*) и вовлеченного в регуляцию клеточной адгезии цАМФ-зависимого фактора обмена гуаниновых нуклеотидов.

Результаты стимуляции (ингибирования) аденилатциклазы могут проявляться как в течение короткого промежутка времени (от нескольких секунд до минуты), так и по прошествии многих часов, когда эффект обусловлен активацией белков, регулирующих экспрессию генов.

Циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ) тоже относится к важным вторичным посредникам. За его наработку отвечают рецепторные гуанилатциклазы, чей каталитический домен расположен на внутренней стороне плазматической мембраны, а внеклеточный домен может быть активирован при связывании с ним мелких пептидов. Вторым источником служит растворенные цитозольные гуанилатциклазы, выступающие в качестве основной мишени для действия монооксида азота (NO).

Как и цАМФ, цГМФ может реализовывать свое действие самостоятельно (в отношении управляемых циклическими нуклеотидами ионных каналов) или активировать цГМФ-зависимые протеинкиназы (*G*-киназа, PKG), димерный белок, содержащий два домена — каталитический (С) и регуляторный (R). Связывание с двумя молекулами цГМФ с R доменом активизирует каталитический домен. Существует две изоформы PKG: I тип (растворен в цитозоле) и II тип (прикреплен к вутриклечным мембранам). Их функциональным антагонистом выступают *цГМФ фосфодиэстеразы*, катализирующей переход цГМФ в ГМФ, ограничивая его действие в качестве вторичного посредника.

Фосфолипазная система. Липиды мембран и их производные служат источником достаточно большого числа веществ с выраженными сигнальными свойствами. Часть из них рассматривают в качестве вторичных посредников (что в целом более правильно), а часть относят непосредственно к нейромодуляторам (см. подразд. 3.3), хотя такое разделение, очевидно, выглядит искусственным.

Несколько десятков рецепторов, связанных с $G\alpha_q$ -белками, реализуют свое действие посредством стимуляции **фосфолипазы С (PLC)**. Она, в свою очередь, расщепляет находящийся во внутреннем липидном слое плазматической мембраны фосфатидилинозитол-4,5-бифосфат на диацилглицерол (ДАГ, DAG), который остается связанным с мембраной, и инозитол 1,4,5-трифосфат (ИТФ, IP_3) — диффундирует в цитоплазму (рис. 176).

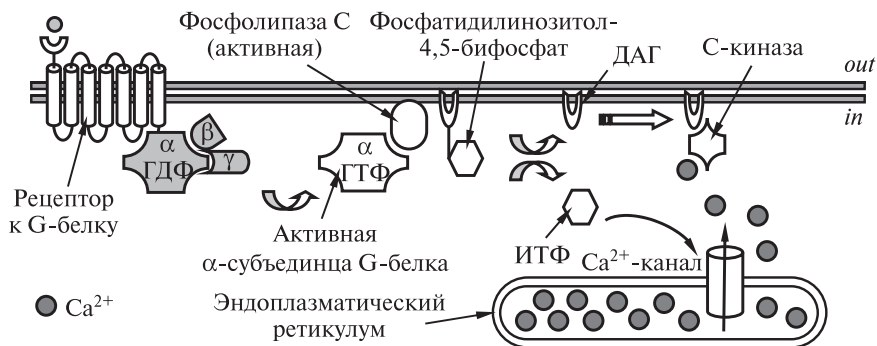


Рис. 176. Фосфолипазная система вторичных посредников

Стимуляция рецепторов, связанных с G-белками, приводит к активации фосфолипазы β , в то время как усиление каталитических свойств фосфолипазы γ наблюдается при стимуляции протеинкиназных рецепторов (например, для эпидермального фактора роста).

ИТФ вызывает открытие Ca^{2+} -каналов эндоплазматического ретикула, что приводит к высвобождению кальция из названного внутриклеточного депо, а так же способен активировать цитозольную киназу Akt (kinase

Акт). ДАГ, диффундируя в мембране, активирует *протеинкиназу С* (С-киназу, РКС). При этом ее полная активация возможна только в присутствии ионов Ca^{2+} , которые поступают из эндоплазматического ретикулума под действием ИТФ (обычные РКС), хотя известно о существовании изоформ, активируемых одним ДАГ, и даже атипичных РКС, не нуждающихся ни в ДАГ, ни в ионах кальция для реализации своих функций. Фосфорилирование ДАГ под действием ДАГ-киназы приводит к снижению уровня этого вторичного посредника. С-киназа фосфорилирует многие внутриклеточные белки, действуя схожим образом с А-киназой.

Интересно, что во многих случаях такое фосфорилирование инактивирует функционирующие компоненты клетки (например, инсулиновые рецепторы), а не стимулирует их, т. е. выступает в качестве регуляторной петли отрицательной обратной связи.

Неорганические ионы играют значимую роль в осуществлении и регуляции клеточных функций. В отличие от других вторичных посредников сигнализация, связанная с возрастанием уровня неорганических ионов в цитоплазме, не требует биохимических превращений, так как запас, из которого они пополняются, создается за счет работы мембранных транспортных систем (см. подразд. 2.1) и просходит стремительно.

В частности, при выделении нейромедиатора в нервных терминалях под влиянием приходящего потенциала действия концентрация ионов кальция в цитозоле возрастает с ~ 100 нМ до ~ 10 мМ (т. е. в 100 тыс. раз) в течение нескольких миллисекунд.

Свободный кальций является важнейшим регулятором биохимических превращений внутри клетки. Возрастание его концентрации в цитоплазме может быть следствием поступления как из внеклеточного пространства, так и внутриклеточных депо. С этих позиций любые транспортные компоненты, используемые для переноса кальция (потенциал- и лиганд-управляемые ионные каналы, обменники) могут рассматриваться как части глобальной кальциевой системы вторичных посредников.

Эффекты Ca^{2+} по отношению к большинству регуляторных макромолекул реализуются при посредстве Ca^{2+} -связывающих белков, расположенных как в цитоплазме, так и внутри различных клеточных органелл (например, митохондрий) и демонстрирующих общие структурные черты. Самым широко распространенным и наиболее известным является *кальмодулин*. Он представляет собой молекулу гантелевидной формы, два глобулярных конца которой соединены при помощи подвижной α -спирали (рис. 177).

Каждый концевой участок имеет по два Ca^{2+} -связывающих домена. Присоединение четырех ионов кальция изменяет конформационную стабильность кальмодулина, в результате он может связываться с большим

количеством белков-мишеней, активируя или ингибируя их. Наиболее важным представляется его действие на *СаМ-киназы* (СаМК). Предполагается, что именно они ответственны за долговременные изменения эффективности синаптической передачи.

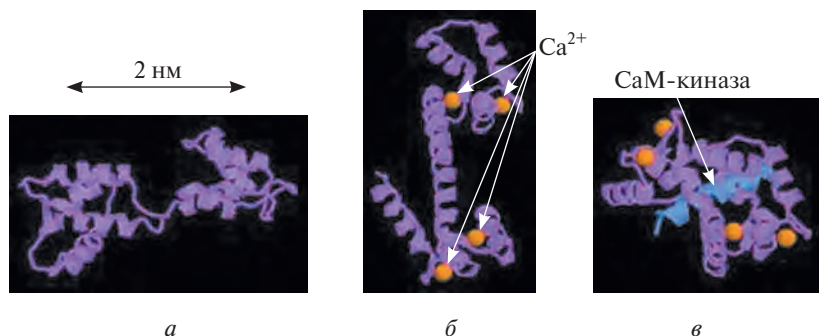


Рис. 177. Структура кальмодулина по данным рентгеноструктурного анализа (по Икура е. а., 1992):
 а – в свободном состоянии; б – связывание с Ca^{2+} ;
 в – связывание с СаМ-киназой

Ионы магния (Mg^{2+}) тоже можно рассматривать в качестве вторичных внутриклеточных посредников – способность их к связыванию как с нуклеотинными последовательностями, так и с многими ферментами не вызывает сомнений. Кроме того, именно комплекс $\text{Mg} - \text{АТФ}$ является основным источником для обеспечения энергетических потребностей клетки. Известно, что магний может вызывать длительное ингибирование калиевых каналов нервных клеток в ответ на стимуляцию *м*-холинорецепторов и тем самым определять возбудимость мембраны нейрона. Кроме того, ионы Mg рассматриваются в качестве антагонистов ионов Ca – магний оказывает тормозное влияние на системы транспорта Ca и подавляет его клеточные эффекты. Тем самым создается возможность для предотвращения негативных последствий, вызываемых сверхвысоким уровнем внутриклеточного кальция.

Использование внутриклеточных вторичных посредников обладает рядом существенных **преимуществ при передаче сигнала**:

- сигнал может *переноситься* от места своего возникновения в те участки клетки, где располагаются структуры, ответственные за формирование ответа;
- происходит *усиление* сигнала – так, всего несколько сигнальных молекул во внеклеточном пространстве способны вызвать образование множества вторичных посредников, что также позволяет распределить сигнал внутри клетки и активировать многие параллельные пути биохимических превращений;

- каждый этап сигнального каскада подвержен регуляторным влияниям, что создает огромные возможности для *модуляции* сигнала в соответствии с условиями, создающимися в определенный момент времени вне и внутри клетки.

Известно, что ~2 % генома ответственно за синтез протеинкиназ. При этом в «типичной клетке» млекопитающего присутствует не менее 1 тыс. разных протеинкиназ. В результате формируются многочисленные протеинкиназные сети, работа которых и определяет ответ клетки на внешнее воздействие.

3.1.5. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЦЕПТОРОВ И ЛИГАНДОВ

Рецепторы представляют собой макромолекулярные белковые комплексы, обеспечивающие узнавание сигнальных молекул клеткой. Существует ряд положений, характеризующих роль рецепторов в межклеточной сигнализации:

- рецепторы *определяют количественные связи* между концентрацией действующего вещества и биологическим эффектом — общее количество рецепторов ограничивает максимальный эффект, вызываемый сигнальными молекулами. Концентрация вещества, способная вызвать биологический эффект, т. е. образовать достаточное количество связей «вещество — рецептор», зависит от прочности связывания (сродства) рецептора и лиганда (*аффинитет*).

Физиологический эффект на малые дозы вещества возрастает прямо пропорционально его концентрации. По мере ее увеличения прирост ответной реакции снижается и в конечном итоге дальнейший рост концентрации действующего вещества не приводит к усилению ответа клетки. Связь между количеством вещества, соединенного с рецептором, т. е. биологическим эффектом (E), и концентрацией свободного вещества (C) описывается гиперболой (рис. 178) в соответствии с уравнением

$$E = \frac{E_{\max} \times C}{C + K_D},$$

где $E_{\max}$ — максимальный эффект, вызываемый действием вещества (общее количество участков связывания на рецепторной молекуле); K_D — равновесная константа диссоциации, т. е. концентрация вещества, при которой наблюдаемый эффект (степень связывания) составляет 50 % от максимального (EC_{50}).

K_D обратна аффинитету — чем она выше, тем меньше степень связывания вещества с рецептором, и наоборот.

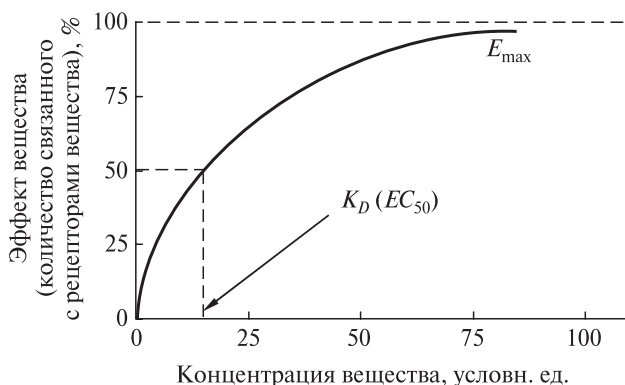


Рис. 178. Кривая «доза — эффект»

Как правило, при графическом представлении данных о связи «доза — эффект» по оси концентраций откладывается логарифм дозы. В результате гипербола преобразуется в сигмовидную кривую, что «удлиняет» шкалу при низких концентрациях вещества, когда эффект развивается быстро, и «укорачивает» ее при высоких концентрациях, характеризующихся медленным изменением ответной реакции клетки.

Чувствительность клетки к определенной концентрации действующего вещества зависит не только от его сродства к рецептору, но и от количества последних. В случае наличия «избыточных» рецепторов максимальный эффект может наблюдаться и при более низкой концентрации действующего вещества.

Максимальный ответ сердечной мышцы при стимуляции β -адренорецепторов достигается даже в условиях фармакологической блокады 90 % от их общего числа.

При избыточности рецепторов лиганды с низким сродством к рецептору способны вызвать максимальный ответ даже при низкой концентрации ($EC_{50} < K_D$). Это особенно важно по той причине, что при высоких K_D вещество быстро диссоциирует и его биологический эффект отменяется. Напротив, низкая K_D , свидетельствующая о высоком аффинитете, говорит о медленной диссоциации вещества и пролонгировании его эффекта;

- на уровне рецепторов **реализуется действие агонистов и антагонистов** — химических веществ, способных в той или иной степени взаимодействовать с рецепторами.

Агонисты — эндогенные (физиологические агонисты) или экзогенные (фармакологические агонисты) химические вещества с сигнальными свойствами, регулирующие функции рецептора при связывании с ним. В зави-

симости от способности вызывать максимальный эффект при связывании со всеми доступными рецепторами, они подразделяются на две группы:

- *полные*: при оккупации ими *всех* рецепторов достигается максимальный эффект;

- *неполные* (парциальные): вызывают меньшую ответную реакцию клетки при связывании *всех* рецепторов. Их неспособность вызывать полный максимальный эффект не связана с низким аффинитетом, т. е. они способны взаимодействовать со всеми доступными рецепторами. По всей видимости, парциальные антагонисты хоть и вызывают некоторые изменения конформации рецептора, но их оказывается недостаточно для полной его активации.

Антагонисты — химические вещества экзогенного происхождения, которые, взаимодействуя с рецептором и не изменяя его функций, предупреждают связывание с ним агониста. В результате наблюдается блокада биологического эффекта. В зависимости от того, обратимо или необратимо они конкурируют с агонистом за связывание с рецептором, антагонисты подразделяются следующим образом:

- *конкурентные*: увеличение их концентрации постепенно приводит к полному подавлению реакции на действие агонистов. Справедливо и обратное — увеличивая концентрацию агониста, можно подавить ответ клетки на действие конкурентного антагониста;

- *необратимые*: сродство данных веществ к рецептору может быть столь выраженным, что последний становится вовсе недоступным для действия агониста. Необратимость эффекта может быть вызвана ковалентным связыванием сигнальной молекулы и рецептора. В результате число оставшихся свободных рецепторов может быть настолько мало, что даже высокие концентрации агониста не в состоянии вызвать максимально возможный эффект. В случае избыточности рецепторов эффективность применения необратимых антагонистов может существенно снижаться.

Понятие антагонизма не ограничивается только взаимодействием вещества и рецептора. При *химическом антагонизме* одно вещество препятствует действию другого за счет простой инактивации, являющейся следствием их взаимодействия. Для его проявления взаимодействующие вещества вовсе не нуждаются в рецепторах. *Физиологический антагонизм* основан на способности различных веществ одновременно активировать механизмы, приводящие к противоположным биологическим эффектам;

- рецепторы ответственны за **избирательность действия веществ** — размер, форма, распределение электрических зарядов на поверхности сигнальной молекулы определяют возможность ее связывания с рецептором.

Вещество взаимодействует с рецептором за счет образования химических связей: ковалентных, электростатических и гидрофобных. При этом их прочность убывает в вышеупомянутом ряду, а электростатические взаимодействия являются самыми распространенными. Легкость связывания

и общая стабильность комплекса лиганд — рецептор (*авидность*) представляет собой меру способности, с которой вещество взаимодействует с рецептором. Модифицируя химическую структуру веществ, можно существенно изменить (уменьшить или увеличить) аффинитет вещества к рецептору и авидность их связи.

Фармакологические препараты, которые связываются с рецепторами посредством слабых взаимодействий, обладают более высокой *селективностью* (избирательностью) действия по сравнению с препаратами, использующими ковалентное связывание. Другими словами, взаимодействие, основанное на образовании слабых химических связей, требует «тонкой» подгонки структуры рецептора по отношению к действующему веществу.

При многократной аппликации действующего вещества наблюдается уменьшение клеточного ответа даже в условиях постоянного присутствия во внешней среде агониста — **десенситизация рецепторов**. Впервые это явление было изучено при действии ацетилхолина в нервно-мышечном препарате лягушки. Оказалось, что оно определяется свойствами самого рецептора, поскольку модулируется при его фосфорилировании, что существенно отличает ее от регуляторного уменьшения числа рецепторов (так называемая *down*-регуляция). Десенситизация обратима, так, повторная аппликация агониста через 15 мин после его удаления вызывает ответ, сравнимый по величине с первоначально наблюдаемым.

В физиологических условиях десенситизация холинергической передачи в нервно-мышечном синапсе не играет существенной роли. В то же время десенситизация в некоторых ГАМК- и глутаматергических синапсах является важным фактором, определяющим активность в постсинаптической клетке.

Десенситизация характерна и для метаботропных рецепторов, функционирование которых опосредуется G-белками. В этом случае модуляция активности рецепторов осуществляется за счет их фосфорилирования А-киназой или специфическими киназами, связанными с G-белком.

Большинство сигнальных молекул оказывают выраженное влияние на синаптическую передачу, т. е. имеют **синаптическую направленность**. Учитывая примат нервной системы в процессах координации активности различных функциональных систем организма, необходимо подчеркнуть, что именно нейромедиаторы и нейромодуляторы играют ключевую роль в межклеточной коммуникации. Структурные и физиологические особенности химических синапсов позволяют выделить ряд этапов в передаче сигнала, подверженных регуляторным влияниям:

- **потенциал действия в пресинаптическом волокне** — именно деполяризация пресинаптического окончания, происходящая при развитии потенциала действия, лежит в основе каскада реакций, приводящих к высвобождению медиатора (см. подразд. 2.4);

• **синтез, хранение и метаболизм медиатора** — подавление синтеза и хранения медиатора выраженно уменьшает эффективность синаптической передачи. Напротив, снижение его катаболизма, т. е. уменьшение скорости распада медиатора, приводит к увеличению его концентрации в пресинаптическом волокне, а следовательно, и количества, выделяемого при каждом импульсе;

• **выделение медиатора** — является ключевым моментом химической передачи сигнала. Процесс демонстрирует сильную Ca^{2+} -зависимость, хотя возможны и исключения, например при действии газообразных нейромедиаторов;

• **обратный захват и деградация медиатора** — эти процессы ограничивают действие медиатора после его выделения в синаптическую щель. Следует заметить, что для большинства нейромедиаторов существует механизм обратного захвата в пресинаптическую терминаль или в окружающие область синапса клетки нейроглии. Ряд медиаторов (ацетилхолин, катехоламины) инактивируются посредством ферментативного гидролиза или окисления. Подавление обратного захвата или ингибирование ферментативных систем, отвечающих за распад медиатора, пролонгирует его действие;

• **связывание с рецептором и обусловленные этим реакции клетки** — многие фармакологические препараты выступают в качестве агонистов или антагонистов тех или иных «естественных» медиаторов. При этом может быть реализовано как прямое действие вещества на рецептор, например блокада образованного им ионного канала (при действии барбитуратов), так и опосредованное влияние на клетку за счет усиления (ослабления) продукции того или иного вторичного посредника (например, метилксантин повышает уровень цАМФ).

Во многом селективность действия того или иного препарата обусловлена еще и тем, что нейроны, входящие в состав тех или иных сетей, преимущественно используют *определенный медиатор* (группу медиаторов). Именно это дает возможность оказывать влияние на *отдельные функции*, находящиеся под контролем нервной системы.

3.1.6. МЕТОДЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ МОЗГА

Существует целый спектр методов различной направленности (электрофизиологических, молекулярно-биологических, биохимических, гистологических, физико-химических и др.), позволяющих не только выявить природу веществ, обладающих сигнальной активностью, но и установить механизм их действия на клетку и организм в целом. В последние десятилетия усилия

все возрастающего числа научно-исследовательских лабораторий сосредоточиваются на характеристике молекулярного состава специфических структур нервной ткани и межнейронных контактов. Этому во многом способствовало широкое применение разнообразных методик, направленных как на визуализацию клеток и их органелл (конфокальная, атомно-силовая микроскопия, иммуногистохимия, рентгеноструктурный анализ и т. п.), так и выяснение их функциональных свойств (электрофизиологические, в том числе микроэлектродные методы, флуоресцентная, включая дву- и мультифотонную, микроскопия, маркирование при помощи антител, методика резонансной передачи энергии флуоресценции (*fluorescence resonance energy transfer*, FRET) и т. п.). Немаловажно, что отмеченные подходы позволяют изучать прижизненную динамику молекулярной организации клеток и синапсов. Понимание того, что взаимодействующие между собой нейроны не составляют застывшую, статическую структуру, является основой для современных представлений о пластических перестройках нейронных функций, лежащих в основе обучения и памяти.

Изучение действия веществ на биологические объекты возможно на разных уровнях организации организма, что и обуславливает различие применяемых методик.

Электрофизиологические методы предназначены для изучения электрической активности возбудимых тканей. В зависимости от условий их применения различают:

- **электрофизиология *in vivo***: ее несомненным преимуществом является регистрация электрической активности участков *неповрежденной* ткани. При исследовании поведения нервных клеток предварительно анестезированное животное помещается в *стереотаксическую установку*, позволяющую вводить электроды в строго заданную область мозга (в соответствии с разработанной системой стереотаксических координат). Отведение электрических потенциалов возможно как от отдельных клеток, так и от их совокупности (электроэнцефалограмма, ЭЭГ; электрокортикограмма, ЭкоГ). При этом электрод помещается снаружи клетки (клеток), что позволяет улавливать слабые колебания потенциала.

Недостатком указанной методики является необходимость постоянного гистологического контроля за тем, от какой структуры в действительности была отведена электрическая активность. Это обусловлено индивидуальными различиями животного, используемого в опыте, и животных, на основании исследований мозга которых были созданы стереотаксические атласы.

Живление электродов позволяет избежать артефактов, обусловленных анестезией, а также провести параллели с изменениями поведения экспериментальных животных;

- **электрофизиология *in vitro***: в этом случае электрическая активность отводится от изолированных клеток из состава клеточных культур, срезов

нервной ткани (*slices*, слайсов) и т. п. Недостатки этой методики очевидны — речь идет о модельных системах, но при этом создается уникальная возможность регистрации электрических сигналов от *идентифицированных* в функциональном отношении структур. В данном случае особое преимущество имеет использование так называемых «модельных» организмов — моллюсков, ракообразных, насекомых, нервная система которых нередко построена из крупных, легко идентифицируемых нейронов с известными связями и позицией в той или иной нейронной сети (см. подразд. 4.2).

Наличие индивидуальных клеток позволяет проводить как вне-, так и внутриклеточную регистрацию. В первом случае она мало чем отличается от электрофизиологической регистрации *in vivo*. Внутриклеточная регистрация электрической активности может быть осуществлена в разных конфигурациях: *фиксация тока (current clamp)* — дает возможность оценить изменения мембранного потенциала и *фиксация напряжения (voltage clamp)* — позволяет оценить количество тока, протекающего через мембрану при том или ином напряжении на ней. Важнейшим методом исследования функции клеточных мембран является методика локальной фиксации потенциала, *patch clamp* (см. подразд. 2.3).

Рассмотренные методики часто используются в сочетании с ионофоретической аппликацией сигнальных молекул и *стимуляцией* определенных путей в пределах ЦНС или отдельных клеток в пределах нейронной сети.

Методы биоанализа — благодаря им возможно охарактеризовать некоторые функции, выполняемые биологически активными веществами в организме.

Базовый принцип этого метода — удаление из организма источника, продуцирующего то или иное вещество (*экстирпация*). Это вызывает различные нарушения биохимической и физиологической направленности. Если при этом экзогенная аппликация исследуемого вещества способна предотвратить развитие патологии, то это является свидетельством, подтверждающим вовлеченность вещества в регуляцию определенной функции.

Указанные методы были впервые успешно использованы еще на заре современной физиологии (первая половина XIX века) для выяснения роли эндокринных желез, продуцирующих различные гормоны.

Эксперименты по изучению поведения позволяют выяснить функциональные эффекты фармакологических препаратов, работу отделов и частей нервной системы и т. п.

Они проводятся в контролируемых условиях лаборатории, что позволяет минимизировать артефакты, связанные с действием внешних, «отвлекающих» факторов. Анализ поведения животных дает возможность исследовать влияние сигнальных веществ на восприятие, обучение, формирование

памяти. Важнейшим этапом в истории изучения поведения животных стала разработка методик исследования научения: *классического* (Павлов, 1906, 1927) и *инструментального* (Торндайк, 1898) условных рефлексов.

При выработке классического условного рефлекса необходимо, чтобы неэффективный сам по себе стимул (*условный раздражитель*), как, например, свет лампочки или звук звонка, предшествовал и сочетался с эффективным стимулом (*безусловным раздражителем*), например пищей или укусом иголкой. В результате повторения этих сочетаний в течение времени предъявление одного лишь условного раздражителя способно вызвать ответную реакцию (*условный рефлекс*), в нашем примере — выделение слюны или отдергивание конечности. Развитие инструментального условного рефлекса предполагает активное участие животного в эксперименте. При этом только определенное его поведение (например, движение в правильном направлении) приводит к вознаграждению со стороны экспериментатора — в результате научение идет быстрее. Кроме того, тренировка в выполнении одних операций улучшает выполнение других, сходных операций (*перенос* приобретенного навыка).

Классический и инструментальный рефлексы различаются по способу подкрепления безусловного стимула, а также по степени их угасания. Так, в случае *частичного подкрепления*, инструментальный рефлекс не угасает, в то же время классический условный рефлекс такой стойкостью не обладает.

Помимо рассмотренного ассоциативного поведения, И. П. Павлов (1927) описал и неассоциативные типы изменения поведения: *габитуацию* (привыкание) — уменьшение силы последовательных рефлекторных реакций, вызываемых повторными раздражениями, и *сенситизацию* — усиление реакции на раздражитель в результате действия другого, обычно более сильного раздражителя, которое не зависит от предшествующего сочетания раздражителей.

Кроме выработки условных рефлексов, существуют и другие методики изучения поведения животных — челночная камера, разнообразные лабиринты и пр., применяемые при анализе действия сигнальных веществ.

Изучение локализации нейромедиаторов и нейромодуляторов в пределах ткани и организма позволяет определить физиологические системы, вовлеченные в реализацию различных функций. При этом в качестве объекта анализа выступают ферментативные системы синтеза медиатора, а также их рецепторы. В этом случае применяются различные методы.

Радиоизотопные методы — в основе лежат различные реакции связывания с радиоактивными веществами:

- **радиоиммунный анализ** (РИА, RIA) — происходит благодаря реакции антиген — антитело. В этом случае вещество, обладающее антигенными свойствами, инкубируется в течение определенного времени с помеченным радиоактивным изотопом аналогичным антигеном и антителами к нему. Сравнивая количество радиоактивных и нерадиоактивных комплексов

антиген — антитело, можно оценить относительное количественное содержание вещества в пробе;

- **радиорецепторный анализ** (PPA, RRA) — связывание радиоактивного лиганда с рецептором позволяет рассчитать константу диссоциации комплекса вещество — рецептор (K_D), определить плотность и число рецепторов в данной ткани. По характеру связывания можно предсказать молекулярный состав и аффинность рецептора, наметить пути его биохимической очистки;

- **авторадиография** — по сути, представляет собой вариацию радиорецепторного анализа. Связывание радиоактивно меченного лиганда происходит в пределах ткани и позволяет локализовать определенную группу рецепторов, поскольку излучение радиоактивных изотопов оставляет отпечаток (*автограф*) на фоточувствительной эмульсии, которую затем можно рассмотреть под микроскопом. Использование высокоспецифичных антагонистов дает возможность установить распределение различных типов (подтипов) рецепторов к одному и тому же веществу. Следует заметить, что авторадиография относится к *непрямым* методам локализации рецепторов в отличие от прямого радиоактивного мечения рецептора.

Радиоизотопные методы обладают крайне высокой чувствительностью, позволяя определять вещества в количестве фемтомолей (10^{-15}). В качестве радиоактивных меток используются, как правило, тяжелые изотопы водорода (^3H) или углерода (^{14}C).

Микродиализ используется для того, чтобы отвести небольшие количества исследуемого вещества от межклеточной жидкости или, наоборот, подвести.

В основе метода лежит диффузия исследуемого вещества через полупроницаемую мембрану камеры для микродиализа. Позволяет также собирать межклеточную жидкость от интересующей области ткани. При этом камера для диализа используется в роли диффузионной ловушки (полупроницаемая мембрана пропускает вещество внутрь камеры по градиенту концентрации, но препятствует его выходу наружу). Метод может быть применим к живым организмам, однако существует возможность возникновения артефактов, связанных с хирургическим вмешательством в исследуемую область мозга.

Электрохимические методы могут быть использованы для обнаружения молекул, способных быстро переходить из восстановленного в окисленное состояние, например катехоламинов.

Детектирование основано на знании значения окислительно-восстановительного потенциала, при котором то или иное вещество переходит в окисленное состояние.

Иммуногистохимические методы позволяют исследовать белки, прежде всего рецепторы и ферментативные системы синтеза медиатора, в составе различных анатомических структур.

В основе метода лежит реакция связывания антиген — антитело и последующая визуализация комплексов. Выделяют несколько вариаций метода:

- **использование антител (первичные антитела)**, изначально связанных с флуорохромом: позволяет при помощи флуоресцентного микроскопа визуализировать изучаемые структуры непосредственно сразу после обработки препарата. Тем не менее вызывает нарекание необходимость связывания каждого нового типа антител с флуорохромом, а также относительно низкая чувствительность метода;

- **использование антител (вторичные антитела)**, связывающихся с первичными антителами: в этом случае вторичные антитела связаны либо с флуорохромом, либо с ферментом, способным катализировать какую-либо биохимическую реакцию. Так, пероксидаза хрена, взаимодействуя с гидроперекисью в присутствии диаминобензидина, вызывает образование плотного осадка, который можно наблюдать в микроскоп. Преимущество этого метода заключается в том, что с первичным антителом связываются многие вторичные антитела, поскольку эта реакция обладает меньшей специфичностью. В результате исходный сигнал многократно усиливается.

Основным недостатком метода является малая уверенность в специфичности выявляемых структур, поскольку разные белковые молекулы могут содержать схожие участки связывания с антителами. Кроме того, существование многочисленных изоформ рецепторов также затрудняет интерпретацию полученных данных.

Гибридизация *in situ* позволяет выявить кРНК, кодирующую соответствующие рецепторы или ферментативные системы синтеза медиатора в исследуемых тканях.

Необходимым условием является знание нуклеотидной последовательности кодирующих белок участков РНК или ДНК. Накопление соответствующих количеств кРНК (кДНК), используемой для гибридизации, происходит в результате полимеразной цепной реакции (*polymerase chain reaction*, PCR). Впоследствии синтезированная кРНК (кДНК) взаимодействует с комплементарной ей РНК, находящейся в клетках изучаемой ткани. Визуализация комплексов достигается за счет радиоактивного мечения используемой искусственно синтезированной кРНК или за счет связывания с ней же антигенной детерминанты (диоксигенина), которая может быть выявлена методами иммуногистохимии.

Методы молекулярной биологии и биоинформатики позволяют не только получать неограниченные количества рекомбинантного белка, но и выявлять новые, еще не известные рецепторные образования. Так, нуклеотидная последовательность ДНК, кодирующая тот или иной рецептор, содержит высокоустойчивые области, сходные или идентичные с таковыми, кодирующими рецепторы аналогичного класса или семейства. Таким образом, посредством ДНК—ДНК гибридизации могут быть обнаружены новые области, ответственные за синтез рецепторов, лиганд к которым пока еще не известен (*рецептор-сирота*).

Методы окраски ткани и визуализации нервных трактов — использование в качестве красителей солей тяжелых металлов (AgNO_3 , AuCl) позволило выявить тонкую организацию нервных клеток — тело с отходящими от него многочисленными отростками (К. Гольджи, около 1880; Рамон-и-Кахаль, 1906);

В основе методов визуализации нервных трактов лежит тот факт, что сома (тело) нервной клетки является основным источником, поставляющим на периферию (отростки) различные метаболиты. Вводя внутрь клетки различные метки (флуоресцентные красители или ферменты, катализирующие реакции, сопровождаемые изменением окраски структуры, например пероксидазу хрена), можно проследить не только ход отдельных отростков в составе нервных волокон или нейронных сетей, но и связи клеток друг с другом. Так, некоторые красители (люциферовый желтый, калцеин) достаточно невелики по размерам и могут спокойно проникать через щелевые контакты в соседние клетки.

Оригинальным методом визуализации нервных трактов является исходное разрушение тела нейрона или его ядра. При этом отмирающие отростки могут быть визуализированы с помощью специальной окраски.

Методы прижизненной визуализации и динамики молекул применяются в сочетании с использованием микроскопов высокого разрешения (конфокальная микроскопия), а также различных флуоресцентных техник (дву- и мультифотонная микроскопия), отличающихся использованием источников освещения с низкой энергией фотонов, не разрушающих природные объекты при падении на них света.

Одним из наиболее успешных оказалось использование природных флуоресцирующих белков, таких как **зеленый флуоресцирующий белок** (*green fluorescent protein*, GFP) — выделенный из тканей медузы *Aequorea victoria* и состоящий из 238 аминокислот (26,9 кДа) протеин с эмиссионным максимумом 509 нм (рис. 179). Присоединение его в качестве метки (путем генно-инженерной модификации последних) к другим белкам (химерные протеины) позволяет визуализировать различные не обладающие собственной флуоресценцией структуры клетки.

За открытие и изучение свойств зеленого флуоресцентного белка Роджер Цин (Roger Y. Tsien), Осами Шимомура (Osamu Shimomura) и Мартин Чалфи (Martin Chalfie) были удостоены Нобелевской премии по химии (2008).

Еще одним примером использования флуоресцентных белков в нейрофизиологических исследованиях служит методика резонансной передачи энергии флуоресценции (*fluorescence (Förster) resonance energy transfer*, FRET). Суть ее заключается в том, что при сближении двух способных к флуоресценции молекул до некоего критического уровня (10–70 Å) происходит перенос энергии между двумя этими хромофорами (от донора к акцептору) без про-

межуточного испускания фотонов. Дополнительным условием его осуществления является требование к перекрыванию спектров испускания донора и поглощения акцептора, а также параллельная ориентация их диполей.

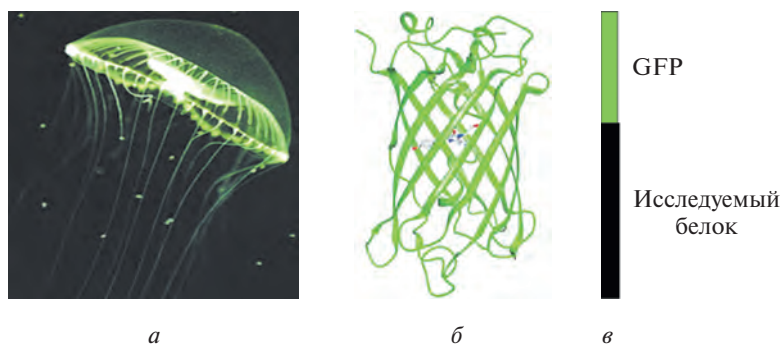


Рис. 179. Зеленый флуоресцирующий белок:
 а – *Aequorea victoria*; б – кристаллическая структура;
 в – схема химерного белка

В качестве доноров и акцепторов могут быть использованы различные флуоресцирующие белки, соединенные с той или иной внутриклеточной структурой (-ами) (например, ν - и t -SNARE белки). В этом случае возникновение резонансной передачи энергии флуоресценции, оцениваемой по характеру регистрируемого флуоресцентного сигнала, будет указывать на сближение донора и акцептора, т. е. взаимодействие их и связанных с ними компонентов друг с другом (рис. 180).

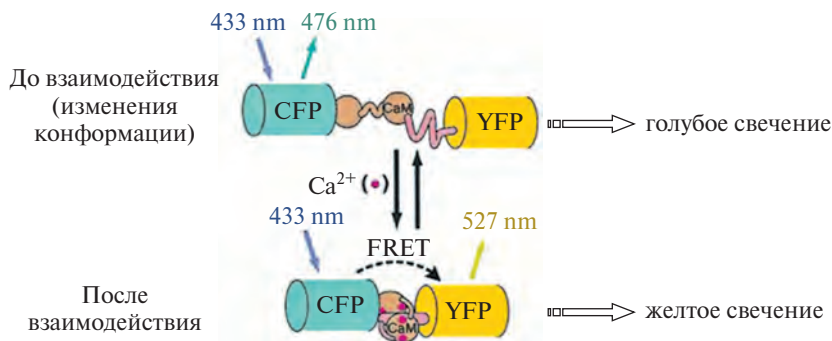


Рис. 180. Схема резонансной передачи энергии флуоресценции в биологических исследованиях:
 CFP – синий флуоресцирующий белок (*cyan fluorescent protein*);
 YFP – желтый флуоресцирующий белок (*yellow fluorescent protein*)

Изучение структуры сигнальных молекул и их рецепторов позволяет полностью охарактеризовать действующее вещество и установить молекулярное строение воспринимающих его структур. В этих целях применяют следующие методы:

- **хроматографию** — химические вещества могут быть выделены и очищены на основании различий в их размерах, молекулярной массе, поверхностном заряде, способности связываться с другими веществами. Хроматографию обычно предворяет разделение исследуемого клеточного материала на несколько фракций — ядерную, мембранную, цитозольную и т. д., полученных при высокоскоростном центрифугировании. В качестве образца, используемого для нанесения на хроматографическую колонку, могут использоваться и образцы, добытые при помощи микродиализа. Выделяют два вида хроматографии:

- **аффинную хроматографию**: при этом специфические антитела связаны с матриксом хроматографической колонки.

Химические вещества образца, обладающие антигенной активностью, связываются с антителами матрикса, а вещества, не распознаваемые антителами, свободно проходят через хроматографическую колонку. Последующее нанесение раствора с низким pH вызывает разрушение комплекса антиген — антитело и искомое вещество сходит с колонки в виде отдельной фракции (фракций);

- **высокоэффективную жидкостную хроматографию** (*high performance liquid chromatography*, HPLC): позволяет провести качественную и количественную оценку содержания веществ в образце.

Стационарная фаза такой колонки способна с высокой эффективностью связываться с неполярными молекулами. Подвижная фаза представляет собой обыкновенный растворитель с выраженными полярными свойствами. Под действием повышенного давления (30–200 бар) подвижная фаза проходит через колонку. При этом первыми с колонки сходят молекулы, более заряженные и, следовательно, более полярные, поскольку их связывание со стационарной фазой колонки минимально. Напротив, неполярные, слабо заряженные молекулы сходят с колонки в составе более поздних фракций. Увеличение длины колонки позволяет добиться лучшего разделения исследуемого материала. При количественной оценке содержания веществ в образце сравниваются хроматограммы для экспериментального образца с хроматограммами, полученными для аналогичного вещества в известной концентрации;

- **рентгеноструктурный анализ** — позволяет с высочайшей разрешающей способностью (около 2–3 Å) установить особенности организации белковых молекул.

Начальным этапом при этом является необходимость получения достаточного количества белка. Этого можно достичь, осуществив клониро-

вание соответствующих генов в некоторых модельных системах (ооциты лягушки, *E. coli*). Сама же нуклеотидная последовательность, кодирующая синтез белка, может быть установлена исходя из знания его первичной аминокислотной последовательности. Второй способ — прямое биохимическое выделение и очистка исследуемого белка — редко применяется на практике из-за того, что молекулы определенного рецептора обычно составляют ничтожную долю от общего белка клетки.

Дальнейшие этапы связаны с получением кристалла белка, что особенно сложно по отношению к мембранным белкам: начиная с 1985 г., когда была установлена атомная структура первого интегрального мембранного белка, насчитывается ~500 связанных с мембраной белков (у разных видов, включая и бактериальные структуры), строение которых удалось установить с высокой степенью разрешения (2015 г.). Впоследствии, анализируя диффракционную картину, полученную при облучении кристалла рентгеновскими лучами, возможно установить положение отдельных аминокислот в пределах каждой из субъединиц белка. На основании полученных данных можно с уверенностью говорить о том, как именно функционирует та или иная белковая молекула.

3.1.7. КРИТЕРИИ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КЛАССИФИКАЦИЯ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ И НЕЙРОМОДУЛЯТОРОВ

Многие биологически активные вещества, равно как и промежуточные метаболиты разнообразных биохимических реакций, способны выступать в качестве медиаторов межклеточных взаимодействий. Заметим, что нейронная передача сигнала не ограничена областью ЦНС, а встречается также и на периферии — нервно-мышечные и нервно-железистые соединения. Сигнальные молекулы, участвующие в нейронной передаче сигнала, традиционно подразделяются на *нейромедиаторы* и *нейромодуляторы*. Несмотря на то что они выполняют похожие функции, существует ряд критериев, позволяющих отделить их друг от друга.

Вещество может рассматриваться в качестве **нейромедиатора**, когда будет установлено, что оно удовлетворяет следующим условиям (по Paton, 1958; Curtis, 1961; McLennan, 1963; Экклз, 1966):

1) *вещество должно присутствовать в достаточных количествах в пресинаптических окончаниях, содержащих ферментативную систему для его синтеза*. Существует несколько подходов для доказательства того, что тот или иной предполагаемый медиатор находится в исследуемой области нервной ткани. В частности, это химический анализ локальных концентраций веществ (комбинируется с прерыванием анализируемых нейронных

путей) посредством микродиализа и целый спектр иммуногистохимических методов, позволяющих успешно локализовывать биохимические системы синтеза предполагаемого нейромедиатора;

2) *раздражение пресинаптических нервов должно приводить к высвобождению достаточного количества вещества из пресинаптических терминалей определенной области.* Стимуляция *in vitro* или *in vivo* происходит посредством действия электрического тока или химических раздражителей. Выполнив затем локальный сбор внеклеточной жидкости, можно определить количество исследуемых веществ в пробе.

Анатомическая сложность нервной системы позвоночных затрудняет точную локализацию терминалей, содержащих предполагаемый медиатор. Поэтому его количество, определяемое в перфузате, составляет ничтожную часть его истинного количества, выделяемого при стимуляции пресинаптического окончания.

Кроме того, для определения связи между высвобождением нейромедиатора и химической синаптической передачей надо показать, что высвобождение Ca^{2+} -зависимо;

3) *действие вещества на постсинаптическую клетку должно быть идентично синаптическому действию.* Методы микроионофореза позволяют чрезвычайно точно локализовать введение вещества в заданную область нервной ткани. В данном случае речь идет о *физиологической идентичности*: вещество должно вызывать такие же изменения ионной проводимости постсинаптической клетки, что и медиатор, обеспечивающий передачу сигнала в синапсе;

Следует помнить, что разные нейромедиаторы вызывают одинаковые изменения ионной проводимости.

4) *влияние фармакологических препаратов на синаптическую передачу и постсинаптическое действие исследуемого вещества должно быть одинаково.* При этом аппликация препаратов также производится ионофоретическим способом. Важно показать *фармакологическую идентичность* исследуемых веществ: эффект должен быть одинаков в случае использования агонистов и сниматься антагонистами, прежде всего селективными блокаторами соответствующих рецепторов;

5) *в области синаптической щели должна существовать ферментативная система инактивации вещества либо система обратного захвата нейромедиатора.* В обоих случаях речь идет об удалении избыточного (не связавшегося с рецептором) нейромедиатора из синаптической области.

Основной особенностью нейромодуляторов, как это следует из самого термина, является их способность модулировать синаптическую передачу — как правило, пролонгировать действие «классических» медиаторов (рис. 181).

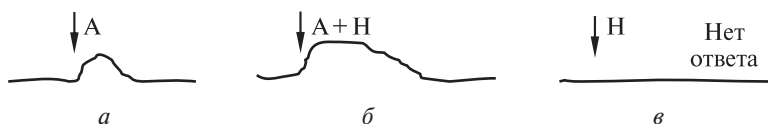


Рис. 181. Схема нейромодуляторного действия вещества (изменение характера ВПСП):
а – агонист (А); *б* – агонист + нейромодулятор (А+Н);
в – только нейромодулятор (Н)

Нейромодуляторы отличаются от нейромедиаторов на основании следующих критериев:

- количество выделяемого в синаптическую щель нейромодулятора, как правило, значительно меньше количества выбрасываемого нейромедиатора;
- нейромодуляторы реализуют свое действие при более низких концентрациях, нежели нейромедиаторы;
- нейромодуляторы не опосредуют протекание быстрых синаптических процессов: характерно медленное и продолжительное действие, опосредуемое активацией G-белков и системы вторичных посредников;
- нейромодуляторы действуют опосредованно — взаимодействуя с нейромедиаторами в случае, когда они выступают в качестве комедиаторов, как, например, АТФ в холинергических нервно-мышечных синапсах. Прямое действие нейромодуляторов на синаптическую передачу выражено слабо;
- часто отсутствуют механизмы быстрой инактивации нейромодулятора в синаптической щели — при этом механизмы обратного захвата встречаются крайне редко.

Некоторые нейромодуляторы обнаруживают поразительное сходство с действием нейромедиаторов, однако до окончательной проверки их на соответствие нейромедиаторным критериям принято говорить о *предполагаемых* (*putative*) нейромедиаторах.

Несложно, однако, видеть, что различия между нейромедиаторами и нейромодуляторами носят в основном количественный, а не качественный характер. Вероятно, более правильно говорить о *нейромодуляторном действии* того или иного вещества. При этом нейромодулятор не способен напрямую инициировать развитие рассматриваемого эффекта (рис. 181, *в*). В этом случае речь идет о его связывании с неспецифичными участками рецептора, следствием чего будет изменение характера взаимодействия истинного лиганда (агониста) с рецептором. Возможна также и модификация внутриклеточных сигнальных путей (сигнальных каскадов) агониста при действии нейромодулятора, что тоже приведет к изменению характеристик клеточного ответа на основное вещество. Если же нейромодуляторный эффект в отношении агониста обусловлен активацией собственных

специфических рецепторов (для нейромодулятора), то эту ситуацию скорее стоит рассматривать как совместное действие двух нейромедиаторов (*котрансмиссию*).

Строго говоря, при одновременном действии множества сигнальных веществ, как это и происходит в мозге, невозможно точно сказать, какое из них выступает как нейромедиатор, а какое относится к нейромодуляторам.

Классификация нейромедиаторов и нейромодуляторов основана на различиях в их химической природе и в целом не имеет единого подхода, в том числе и из-за сложностей с разделением сигнальных веществ на эти группы (см. выше).

Нейромедиаторы подразделяются на две большие группы:

- **биогенные амины**: во многих случаях являются производными соответствующих аминокислот, получаемыми в результате декарбоксилирования последних.

Дальнейшее деление в пределах группы основано на характере взаимодействия аминокислоты с органическим радикалом:

- **ацетилхолин**: является единственным представителем производных холина;

- **моноамины**: в их состав, помимо первичной аминокислоты, входят производные: имидазола — гистамин, индола — серотонин, катехоламины — дофамин, адреналин (эпинефрин) и норадреналин (норэпинефрин). Основой для синтеза этих групп нейромедиаторов служат аминокислоты — гистидин, триптофан и тирозин соответственно.

В группу следовых аминов (*trace amines*) включают вещества (тирамин, октопамин и т. п.), образуемые в результате активности побочных путей биосинтеза классических моноаминов.

- **аминокислоты**: γ -аминомасляная кислота (ГАМК), глицин, глутамат и аспартат.

Нейромодуляторы подразделяются на четыре большие группы:

- **пурины и пиримидины**: к указанной группе относятся внеклеточные АТФ, АДФ и аденозин (пурины), а также УТФ и УДФ (пиримидины);

Внеклеточный АТФ и аденозин соответствуют всем критериям нейромедиаторов.

- **нейропептиды**: эндорфин, мет-энкефалин, кальцитонин, вещество Р и т. п. образуются из крупных белковых молекул-предшественников. В результате из одного белка может быть сформировано более одного нейропептида. В одной клетке может одновременно существовать более одного нейропептида, они также часто выступают в роли комедиатора;

- **производные жирных кислот**: эйкозаноиды и арахидоновая кислота. Данные нейромодуляторы принимают участие в регуляции реакции воспаления в качестве медиаторов лихорадки и т. п.;

• **газообразные вещества:** обладают целым спектром уникальных особенностей, среди которых отсутствие специфических механизмов их накопления и хранения внутри клетки. В настоящее время к ним относятся как минимум три молекулы: NO, CO и H₂S.

Долгое время по отношению к нейромедиаторной специфичности того или иного нейрона считался справедливым так называемый принцип Дэйла. Согласно этому принципу из окончания нервной клетки высвобождается только один медиатор, причем эта специфичность не изменяется с течением времени. Кратко это положение формулировалось как «один нейрон — один нейромедиатор».

Интересно, но Г. Дэйл никогда не формулировал никакого принципа или правила, относящегося к особенностям синтеза и секреции нейромедиатора. Термин **принцип Дейла** (*Dale's principle*) использовал Дж. Экклс в одной из своих статей 1954 г., ссылаясь при этом на данные работы Дейла 1934 г. (опубликована позже) (*Dale H. H. Pharmacology and Nerve-endings* (Walter Ernest Dixon Memorial Lecture): (Section of Therapeutics and Pharmacology) // *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1935. 28 (3). P. 319–332.) В этой статье Г. Дэйл не утверждал, что идентификация нейромедиатора в периферическом синапсе какого-либо нейрона автоматически подразумевает его же (медиатора) участие в синаптической передаче, обеспечиваемой другими его отростками.

Генри Халетт Дэйл
(Henry Hallett Dale,
1875–1968)



Джон Кэрью Экклс
(John Carew Eccles,
1903–1997)



Знаменитый английский нейрофизиолог Дж. Экклс (Eccles, 1957) расширил принцип, постулировав, что «каждый данный класс нейронов во всех синаптических окончаниях будет функционировать либо только как возбуждающий, либо как тормозный»¹. Тем не менее было показано (Wachtel & Kandel, 1967), что электрическая стимуляция одного и того же пресинаптического нейрона вызывает одновременно возникающие ТПСП и ВПСП в двух разных постсинаптических нейронах, моносинаптически связанных с первой клеткой. Этот экспериментальный факт получил объяснение за счет «оснащения» постсинаптических структур разными подтипами рецепторов к одному и тому же нейромедиатору. Реакции таких

¹ Цит. по: Э. Кэндел. Клеточные основы поведения. М., 1980, С. 243.

рецепторов, т. е. вызываемые их активацией постсинаптические эффекты, могут быть диаметрально противоположны (рис. 182, б).

Впоследствии выяснилось, что в нейронах ганглиев автономной нервной системы одни и те же клетки высвобождают как адреналин, так и ацетилхолин. Существование многочисленных комедиаторов (АТФ в холинергических нервно-мышечных синапсах, нейропептиды в синапсах симпатических ганглиев, ГАМК и глицин в интернейронах спинного мозга позвоночных и т. п.) также противоречит «канонической» формулировке принципа Дейла.

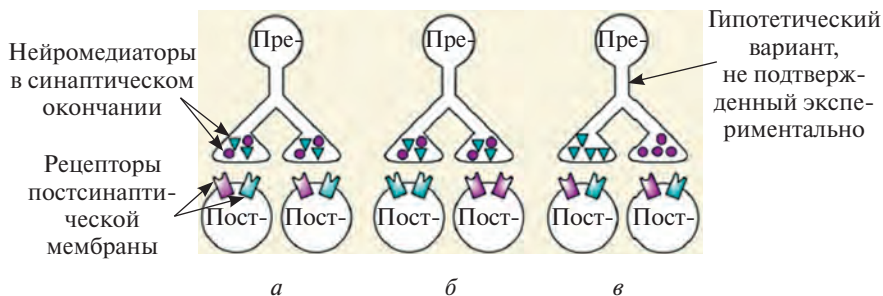


Рис. 182. Взаимоотношения между типом медиатора в нервном окончании и рецепторами постсинаптической мембраны (изменение характера ВПСР) (по Marder e. a., 2005):

Пре- — пресинаптический нейрон, содержащий несколько (два) нейромедиаторов,
Пост- — постсинаптическая клетка, оснащенная рецепторами к медиатору (-ам) пресинаптического нейрона

Более справедливо говорить о метаболическом единстве нейрона (нейрон *един* в своем химизме), что предполагает одинаковый репертуар используемых сигнальных молекул (не обязательно только одной) в любых его частях (отростках) (рис. 182, а, б). Именно такого рода корректировка принципа Дейла была предложена Дж. Экклсом в его выступлении на конгрессе, посвященном столетию со дня рождения Г. Дейла (Кэмбридж, Великобритания, 1975).

Секреция разных нейромедиаторов в разных частях нейрона отмечена в отношении клеток моллюска *Aplysia*. Правда, речь идет о распределении по разным везикулам с последующим их выделением в разных районах клетки различных пептидных нейромедиаторов, представляющих собой производные общего для них прогормона откладки яиц (подробнее об особенностях пептидных передатчиков см. подразд. 3.3). В культуре дофаминсодержащих клеток среднего мозга было показано, что используемый ими в качестве комедиатора глутамат выделяется в отличных от дофамина участках, но сохраняется ли такой характер секреции в интактном мозге — не ясно. Заметим, что и дофаминергические нейроны с их сверхмногочисленными варикозными расширениями, каждое из которых представляет самостоятельный сайт для секреции основного нейромедиатора, не лучший пример «типичного» нейрона ЦНС.

3.2. НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ СИСТЕМЫ МОЗГА

Как уже отмечалось в предыдущем разделе, достаточно большое число сигнальных молекул претендует на роль нейромедиаторов и/или нейромодуляторов. В целом остается неясным, почему в пределах нервной системы, даже на самых простых уровнях ее организации, имеется столько медиаторов в составе обособленных нейронных сетей. В равной степени этот вопрос распространяется и на другие системы, вовлеченные в процессы межклеточной коммуникации. Очевидно, что первичная функция любой сигнальной молекулы — это передача возбуждения или торможение активности той или иной клетки, мишени ее действия. Этого можно с успехом достичь, используя только два или даже один медиатор.

Ответ на этот вопрос может дать гипотеза **полигенеза нервной ткани** (Д. А. Сахаров, 1974). Согласно этой гипотезе предполагается множественное и независимое происхождение нейронов от различных клеточных линий, каждая со своими специфическими медиаторами, которые и сохраняются в качестве сигнальных молекул в последующих поколениях. Такая точка зрения находит подтверждение и в данных геномных исследований эволюции нервной ткани у эволюционно древних организмов (L. L. Moroz, 2015). Даже по отношению к организмам, обладающим самой простой в сравнении с высокоорганизованными животными нервной системой, несправедливо говорить о меньшей степени медиаторной специфичности их нервных клеток. Использование в качестве сигнальных молекул *различных* веществ характерно даже для кишечнорастворимых.

В ходе эволюции происходит рекомбинация элементарных механизмов, обуславливающих процессы межклеточной коммуникации. В частности, у высших позвоночных и беспозвоночных животных уменьшается доля пептидергических нейронов и наблюдается экспансия нервных клеток, использующих различные низкомолекулярные соединения в качестве нейромедиатора. У находящихся на более высокой ступени эволюции представителей животного мира происходит замена электрических и электрохимических синапсов на чисто химические.

Сравнительно-физиологические исследования показали, что признаков эволюционного усложнения элементарных механизмов, лежащих в основе электрической возбудимости нервной клетки, не существует. По мнению П. Г. Костюка (1979), они представляют собой чрезвычайно древнее приобретение живых организмов. Новыми же являются различные вспомогательные механизмы, способствующие более эффективному использованию уже имеющихся основных, например появление миелиновой оболочки и системы перехватов Ранвье, значительно увеличивающих скорость проведения нервного импульса.

В последующих главах основное внимание будет сосредоточено на характеристике нейромедиаторных/нейромодуляторных систем мозга позвоночных, критически значимых для реализации основных физиологических функций организма.

3.2.1. АЦЕТИЛХОЛИН

Локализация в центральной нервной системе млекопитающих. Первым веществом, нейромедиаторная роль которого была установлена со всей ясностью, является ацетилхолин (АХ).

В начале XX века Хант (Hunt, 1907) и Дэйл (Dale, 1914) показали, что сложные эфиры холина обладают выраженным биологическим эффектом. Г. Дэйл также разделил холинорецепторы на м- и н- типы. В 1921 г. О. Леви (O. Loewi) демонстрирует, что тормозный эффект стимуляции блуждающего нерва на сердце опосредуется выделением в межклеточное пространство химического вещества, позднее (1926) идентифицированного как ацетилхолин. Наконец, Х. Чанг и Дж. Гаддум (Chang & Gaddum, 1933) показали, что АХ присутствует и в ЦНС млекопитающих.

Холинергическая система мозга образована тремя основными скоплениями нейронов (рис. 183):

- *мотонейроны спинного мозга* — формируют нервно-мышечные соединения, коллатерали этих клеток также образуют возбуждающие синапсы на мелких вставочных нейронах (клетки Реншоу, обладающие н-холинорецепторами), расположенных в промежуточном веществе;
- *интернейроны базальных ядер* — преимущественно локализованы в области стриатума (полосатого тела). Терминали этих клеток образуют синапсы с отростками, проецирующимися в эту область мозга, дофаминергическими нейронами *substantia nigra*;
- *проекционные нейроны* — образуют синапсы с клетками, расположенными на значительном расстоянии от мест локализации скопления их тел.

Их номенклатура предложена М. Месуламом и соавт. (M. Mesulam e. a., 1983). Согласно этой номенклатуре группы Ch1, Ch2, Ch3 и Ch4 находятся в подкорковых областях конечного мозга, давая отростки в участки гиппокампа, обонятельной луковицы, коры больших полушарий и миндалины. Группы

Ch5 и Ch6 расположены в начальных отделах головного мозга — заднем (мосту) и продолговатом мозге. Их отростки направляются к зрительным буграм и гипоталамической области, а также к нижележащим областям ЦНС.

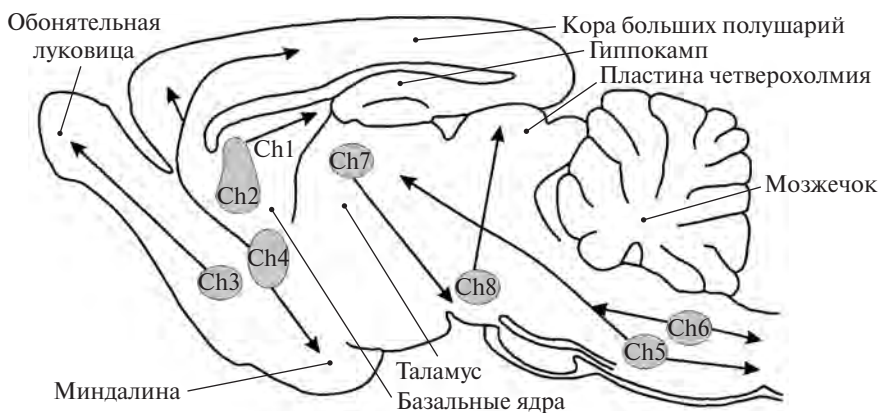


Рис. 183. Распределение проекционных холинергических нейронов и их связи в мозге крысы (здесь и далее по von Bohlen und Halbach & Dermietzel, 2002)

Терминалы расположенных в области поводков промежуточного мозга нейронов группы Ch7 достигают ядер ножек мозга, а нейронов Ch8 группы (околоблизнецовые (*parabigeminal*) ядра) — верхних холмиков среднего мозга.

Малочисленные скопления холинергических нейронов существуют также в коре больших полушарий, гиппокампе и обонятельной луковице.

Метаболизм ацетилхолина. Ацетилхолин образуется в цитоплазме нервных окончаний из холина и ацетилкоэнзима А (ацетил CoA) под действием *холинацетилтрансферазы* (рис. 184).

Этот фермент в высоких концентрациях содержится в нервных клетках, и его количество не является лимитирующим фактором при синтезе АХ. Холин образуется при распаде экзогенного фосфатидилхолина или попадает в нейроны извне как результат поступления в организм с пищей. Его перемещение в цитозоль осуществляется благодаря наличию в мембране клетки Na^+ -зависимого переносчика. Система, опосредующая симпорт ионов натрия и холина внутрь клетки, высокоспецифична и встречается только в мембране нервных окончаний холинергических нейронов. Она избирательно блокируется гемихолинием.

Ацетил CoA образуется в митохондриях из пирувата как один из продуктов метаболического распада глюкозы, откуда он и поступает в цитоплазму нейрона. Накопление синтезированного АХ в синаптических

пузырьках осуществляется при помощи специфического транспортного белка — транспортера АХ (VACht), состоящего из 12 трансмембранных доменов. Помимо этого, мембрана везикул содержит H^+ -зависимую АТФазу, перекачивающую протоны внутрь. В результате ее работы рН внутри синаптических пузырьков понижен, а на внутренней стороне их мембраны накапливается положительный заряд. Потенциальная энергия созданного таким образом электрохимического градиента используется для перемещения АХ против концентрационного градиента внутрь везикулы. Везамикол способен блокировать работу АХ-транспортера.

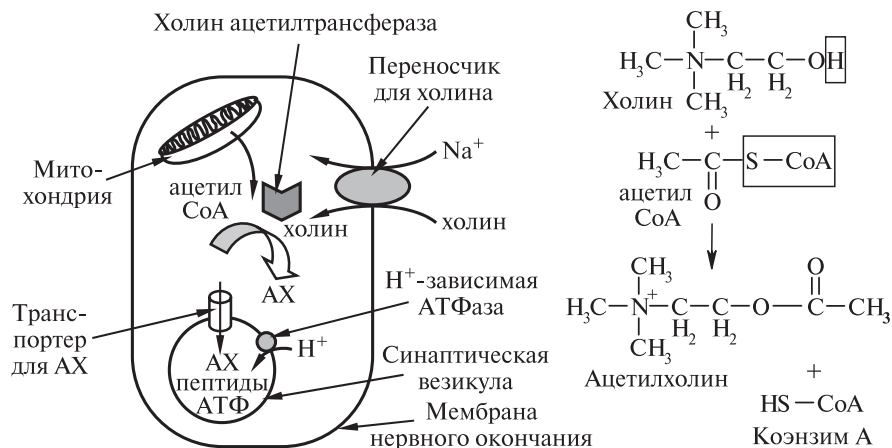


Рис. 184. Синтез ацетилхолина в нервном окончании

Помимо собственно АХ, синаптические пузырьки содержат также небольшие количества АТФ и пептидов, выступающих в роли комедаторов.

Работы Р. Биркса и Ф. МакИнтоша (Birks & MacIntosh, 1957, 1961), выполненные на симпатическом ганглии кошки, позволили количественно оценить метаболизм АХ в нервных окончаниях (рис. 185).

Оказалось, что АХ содержится в трех основных местонахождениях. В первом из них находится около 40 мкг АХ, который не может быть израсходован даже при длительном раздражении пресинаптических волокон (*стационарный АХ*). Эта фракция АХ не подвержена действию ацетилхолинэстеразы и, вероятно, находится вне синаптической области. Основной резервуар АХ в нервных окончаниях содержит около 220 мкг АХ. При этом одна его часть находится в синаптических пузырьках (*депонированный АХ*), а другая — вне синаптических везикул (*избыточный АХ*). Последняя фракция может быть подвергнута гидролизу при действии ацетилхолинэстеразы нервных окончаний. Запасы основного АХ в состоянии покоя пополняют-

ся со скоростью 4 ммкг/мин, из которых около 10 % (0,4 ммкг) спонтанно выделяются в синаптическую щель, а оставшиеся 3,5 ммкг пополняют резервуар избыточного АХ. В условиях активации пресинаптических волокон наблюдается увеличение как синтеза АХ, так и скорости его высвобождения — до 28 ммкг/мин, способное оставаться на данном уровне сколько угодно долгое время (разумеется, при непрекращающемся поступлении в клетку холина и глюкозы). Не менее $\frac{1}{4}$ всего депонированного АХ относится к легко высвобождаемой фракции, способной сразу выделиться в синаптическую щель под влиянием нервных импульсов, а позднее возместиться из основных резервуаров депонированного АХ.

Сравним эти данные с распределением везикул в центральных нейронах (см. рис. 146).

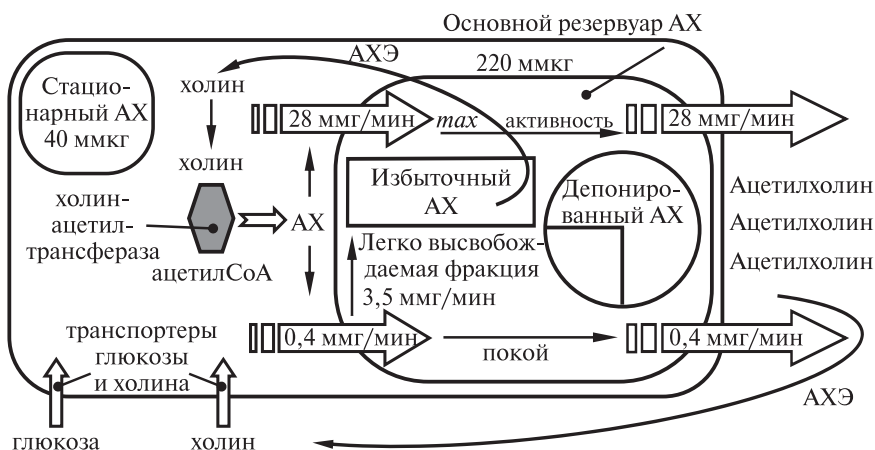


Рис. 185. Схема метаболизма ацетилхолина в симпатическом ганглии кошки (по Birks & MacIntosh, 1961, с изменениями)

Выделение АХ Ca^{2+} -зависимо и опосредовано комплексом SNARE белков. При этом токсины столбняка и ботулизма, вырабатываемые бактериями из рода *Clostridium*, взаимодействуя с белками комплекса SNARE, предотвращают выделение нейромедиатора. Напротив, α -латротоксин, полученный от самки каракурта (*Lathrodectus tredecimguttatus*, «черная вдова»), усиливает выброс АХ.

Важную роль в механизмах распада АХ играют эстеразы — *ацетилхолинэстераза* (АХЭ) и *бутилхолинэстераза*, обладающая меньшей специфичностью и часто именуемая *псевдохоллинэстеразой* (рис. 186).

Ацетилхолинэстераза экспрессируется в нейронах, мышечной ткани и некоторых клетках крови. Она также присутствует в тех нервных клетках, которые не синтезируют АХ самостоятельно, но способны его восприни-

мать в качестве медиатора (*холиноцептивные нейроны*). Фермент представляет собой белок молекулярной массой около 80 кДа, существующий в нескольких изоформах: мономерной (G_1 , локализованной в цитоплазме), димерной (G_2) и тетрамерной (G_4 , доминирующей в ЦНС и расположенной в плазмалемме), а также асимметричными формами с коллагеновыми остатками (A_4, A_8, A_{12}). АХЭ образуется в теле нейрона и затем посредством аксонного транспорта попадает в нервные окончания (как и холинацетилтрансфераза).

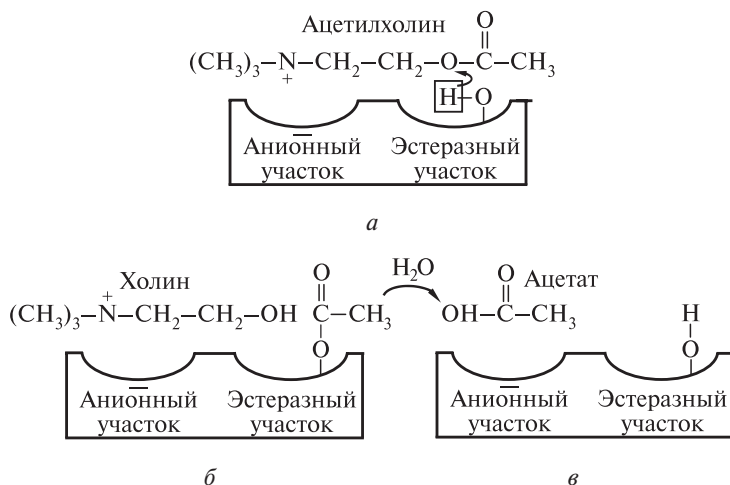


Рис. 186. Распад (гидролиз) ацетилхолина:
а–в — последовательные этапы работы ацетилхолинэстеразы

Стоит заметить, что в цитоплазме нервных окончаний благодаря одновременному присутствию АХЭ и холинацетилтрансферазы образование и распад АХ происходят непрерывно и скорости этих процессов примерно равны. При этом уровень ацетилхолина контролируется в соответствии с *законом действующих масс*: так, снижение его концентрации при массивном выбросе в синаптическую щель приводит к нарастанию скорости образования АХ до тех пор, пока начальное равновесие не будет восстановлено. Бесконечное нарастание АХ в терминалях также невозможно, поскольку увеличение его концентрации неизменно приводит к усилению активности АХЭ, т. е. усиливает распад АХ. Именно благодаря этому механизму выделение АХ в синаптическую щель может поддерживаться на постоянно высоком уровне при интенсивной стимуляции пресинаптического волокна.

Считается, что образующийся в результате гидролиза в синаптической щели АХ холин в незначительном количестве захватывается пресинаптическими терминалями, где он снова включается в синтез новых порций АХ.

Инактивация АХЭ пролонгирует действие АХ, поэтому ее блокаторы обладают выраженным терапевтическим и токсическим действием. Блокаторы АХЭ конкурируют с АХ за АХЭ, обратимо (сложные эфиры карбамила) или необратимо (фосфорорганические вещества, нервно-паралитические газы) связываясь с последней.

Рецепторы и передача сигнала внутрь клетки. Выделившийся ацетилхолин взаимодействует с рецепторами постсинаптической мембраны или с ауторецепторами пресинаптических терминалей. Первичное разделение холинергических рецепторов на подтипы основано на характере их взаимодействия с двумя алкалоидами: никотином и мускарином.

Н-холинорецепторы активируются никотином в малых концентрациях и блокируются кураре, *М-холинорецепторы* активируются мускарином и блокируются атропином. Впоследствии выяснилось, что эти две группы имеют существенные структурные различия.

Н-холинорецепторы относятся к ионотропным рецепторам и представляют собой классический лиганд-управляемый ионный канал.

Н-холинорецептор был впервые изолирован в 1970 г. Источником белка при этом послужили клетки электрического органа, представляющего собой видоизмененные миоциты ската *Torpedo marmorata*, мембраны которых чрезвычайно насыщены рецепторами к АХ (рис. 187).



Рис. 187. Н-холинорецептор (по Miyazawa е. а., 2003):
а — поперечный разрез кристалла цилиндрической везикулы;
мембрана которой содержит АХ-рецепторы; б — одиночный АХ-рецептор

Простейший н-холинорецептор представляет собой гликопротеин молекулярной массой около 300 кДа, состоящий из отдельных субъединиц, классифицируемых на основании молекулярной массы — α (40 кДа), β (50 кДа), γ (60 кДа), δ (65 кДа) и ϵ (53 кДа).

Пять субъединиц (2α , β , γ , δ) закреплены в мембране и образуют кольцо вокруг центральной поры. Внеклеточная часть рецептора расширена по сравнению с мембранной частью, ее размеры составляют около 85 Å в диаметре и 70 Å в высоту. Интересно, что участок размером в 10 Å, на-

ходящийся у основания мембраны с внеклеточной стороны, образован гидрофобными участками субъединиц, аналогичными тем, что составляют основу мембранной части рецептора (30 Å). Диаметр поры составляет 7 Å.

Каждая субъединица состоит из четырех трансмембранных участков (M1–M4), соединяющих их петель и внеклеточного концевой N-участка. Участки M1, M3 и M4 стабилизируют субъединицу в мембране за счет кластеризации гидрофобных участков аминокислотной цепи. Участок M2 в виде изломанной α -спирали обращен в сторону поры, формируя ее воротную часть, определяющую проницаемость канала для различных ионов (рис. 188).

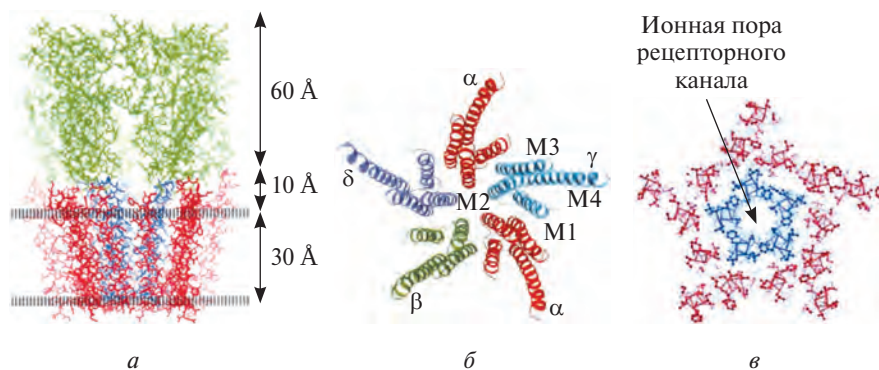


Рис. 188. Пентамерная организация н-холинорецептора (по Miyazawa e. a., 2003):
а — вид сбоку; *б* — вид со стороны синаптической щели;
в — поперечный разрез на уровне мембраны

Внеклеточный участок образован преимущественно β -спиралями. Сайты связывания с АХ находятся только на внеклеточных участках α -субъединиц. Для активации н-холинорецептора требуется присоединение к нему двух молекул АХ (рис. 189).

В результате изменения конформации α -субъединиц их M2-участки поворачиваются на 15° по отношению к центральной оси. Взаимодействуя с участками M2 других субъединиц, они вызывают смещение участков M1, M3 и M4, ослабляя гидрофобные связи субъединиц друг с другом в областях, обращенных к поре. Как следствие, ее диаметр увеличивается и канал становится проницаемым для положительно заряженных ионов.

Н-холинорецептор может состоять и из меньшего количества субъединиц. В то же время существуют разнообразные изоформы α - и β -субъединиц: 10 ($\alpha 1$ – $\alpha 10$) и 4 ($\beta 1$ – $\beta 4$) соответственно ($\alpha 8$ -субъединица характерна для птиц, но не млекопитающих). В зависимости от количества типов субъединиц, участвующих в образовании канала, они могут быть подразделены следующим образом:

- **гетеромультимерные:** два или более типов субъединиц, например АХ-рецепторы вегетативных ганглиев ($\alpha 3\alpha 5\beta 4$) или нервно-мышечного соединения ($2\alpha, \beta, \gamma, \delta$);

- **гомомультимерные:** образованы субъединицами только одного типа. Представлены ауторецепторами, имеющими в своем составе лишь $\alpha 7$ -субъединицы и образующими каналы для Ca^{2+} . Поскольку они расположены на мембране пресинаптических окончаний, то их активация вызывает усиление выхода нейромедиатора (не только АХ, но и дофамина, серотонина и глутамата) в синаптическую щель.

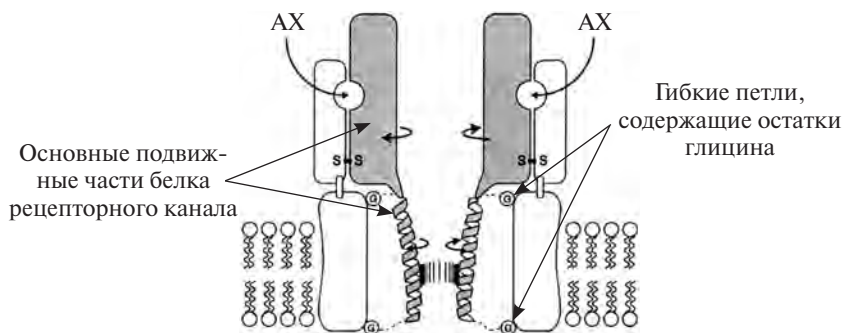


Рис. 189. Модель воротного механизма н-холинорецептора (по Miyazawa e. a., 2003)

Изменение субъединичного состава происходит и в ходе индивидуального развития организма. Так, в АХ-рецепторах скелетных мышц с возрастом происходит замена эмбриональной γ -субъединицы на ϵ -субъединицу, что изменяет кинетику ионного канала — уменьшается время его нахождения в открытом состоянии.

В зависимости от места нахождения в организме н-холинорецепторы подразделяют на два подтипа¹:

- **n_m -холинорецепторы:** встречаются в нервно-мышечных соединениях, состоят из пяти субъединиц разного типа;

- **n_n -холинорецепторы:** рецепторы нейронального типа. Часто представлены гетеромультимерными с «ограниченным» набором субъединиц или гомомультимерными каналами. Характерны для постганглионарных нейронов вегетативных ганглиев, клеток коры больших полушарий, гиппокампа, таламуса, гипоталамуса, ядер моста.

В обоих случаях активация н-холинорецепторов приводит к увеличению проницаемости мембраны для положительно заряженных ионов,

¹Международный союз фармакологии (IUPHAR) рекомендует именовать н-холинорецепторы в зависимости от их субъединичной организации, например, — $\alpha 1\beta 1\gamma\delta$ -nAChRs (мышечного типа), $\alpha 4\beta 2$ - или $\alpha 7$ -nAChRs (нейронного типа).

в основном натрия и калия, что приводит к деполяризации мембраны постсинаптической клетки и запуску целого спектра реакций (см. подразд. 2.2).

М-холинорецепторы относятся к метаботропным рецепторам, связанными с G-белками плазматической мембраны.

М-холинорецепторы представляют собой мономеры, состоящие из 440–540 аминокислотных остатков, образующие семь трансмембранных доменов. На основании фармакологических свойств М-холинорецепторы изначально были разделены на два подтипа: M_1 и M_2 . Впоследствии по результатам молекулярного клонирования были выделены еще три подтипа: M_3 , M_4 , M_5 . Таким образом, М-холинорецепторы объединены в две большие группы:

- **M_1 -группа:** к ней относятся рецепторы подтипов M_1 , M_3 и M_5 . Они связаны с G_q -белками, активирующими фосфолипазу C и, как следствие, выход Ca^{2+} из внутриклеточных депо;

- **M_2 -группа:** в ее состав входят рецепторы подтипов M_2 и M_4 , связанные с G_i -белками, активация которых снижает продукцию цАМФ вследствие ингибирования аденилатциклазы.

Кроме этого, существуют и дополнительные пути передачи сигнала при активации М-холинорецепторов: стимуляция фосфолипазы A_2 (рецепторы M_1 -группы), фосфолипазы D (подтипы M_1 и M_3), прямое действие комплекса $\beta\gamma$ -субъединиц на ионные каналы (подтип M_2) и даже ингибирование фосфодиэстеразы, приводящее к повышению внутриклеточной концентрации цАМФ.

Активация М-холинорецепторов приводит как к деполяризации, так и к гиперполяризации мембраны клетки-мишени, реализуемым вследствие прямого или опосредованного действия. Описаны следующие изменения ионной проводимости мембраны при действии ацетилхолина: стимуляция K^+ -каналов внутреннего выпрямления (подтипы M_2 и M_4), снижение Ca^{2+} -проводимости (подтип M_2), кальцийзависимая активация калиевой, хлорной и неспецифической катионной проводимостей (рецепторы группы M_1), торможение потенциалзависимой K^+ -проводимости (подтипы M_1 и M_3).

М-холинорецепторы обнаружены не только в составе ЦНС, но также и на поверхности клеток-мишеней из состава других тканей. Рецепторы подтипов M_1 и M_2 встречаются в нейронах коры больших полушарий, гиппокампа, миндалины, полосатого тела, обонятельной луковицы. Они также характерны и для постгангионарных нейронов вегетативных ганглиев. M_2 -холинорецепторы характерны для кардиомиоцитов, благодаря им реализуется тормозное действие АХ на сердце и клеток гладких мышц. Для последних показано также наличие рецепторов подтипа M_3 . Подтипы M_4 и M_5 встречаются реже и преимущественно локализованы в ЦНС.

Биологические эффекты ацетилхолина. Исследование физиологической роли ацетилхолина стало возможным благодаря использованию различных биологически активных веществ, выступающих в роли агонистов или ан-

тагонистов холинергической передачи (табл. 6). Кроме того, в их качестве могут выступать и химически синтезированные вещества: пилокарпин и оксотреморин (агонисты М-холинорецепторов), карбахол (агонист М- и н-холинорецепторов), физостигмин (блокатор АХЭ) и т. д.

Таблица 6

**Вещества животного и растительного происхождения,
влияющие на холинергическую передачу**

Вещество	Источник происхождения	Влияние на холинергическую передачу
Никотин	Алкалоид <i>Nicotiana tabacum</i>	Агонист н-холинорецепторов
Мускарин	Алкалоид <i>Amanita muscaria</i>	Агонист М-холинорецепторов
α -Латротоксин	Токсин яда паука <i>Lathroedectus tredecimguttatus</i>	Усиливает выброс АХ в синаптическую щель
Атропин и скополамин	Алкалоиды <i>Atropa belladonna</i> и <i>Hyoscyamus niger</i>	Блокаторы М-холинорецепторов
Токсин ботулизма	Токсин бактерии <i>Clostridium botulinum</i>	Снижает выброс АХ в синаптическую щель
Бунгаротоксин	Токсин яда змеи <i>Bungarus multicinctus</i>	α -Токсин блокирует н-холинорецепторы, β - и γ -токсины снижают выброс АХ
d-Тубокурарин	Алкалоиды растений родов <i>Chondrodendron</i> и <i>Strychnus</i>	Блокатор н _м -холинорецепторов

Принимая во внимание расположение холинергических нейронов и локализацию АХ рецепторов в организме, можно выделить следующие биологические эффекты АХ:

- *обеспечение работы внутренних органов* — реализуется благодаря использованию АХ в качестве нейромедиатора в ганглиях вегетативной нервной системы (симпатических и парасимпатических). Так, АХ снижает частоту и силу сердечных сокращений, повышает секреторную и моторную активность кишки, расслабляет непроизвольный сфинктер мочевого пузыря, способствуя мочеотведению, сокращает гладкие мышцы бронхиол и глаза (сфинктер радужки) и т. п.;

- *участие в работе нейронных систем мозга* — головной мозг относительно богаче М-холинорецепторами, а в спинном мозге преобладают н-холинорецепторы. Никотин в малых концентрациях оказывает умеренное возбуждающее действие на нейроны гиппокампа и кору больших полушарий, в то время как в высоких концентрациях угнетает работу холинергических систем. В ЦНС ацетилхолин вовлечен в контроль двигательной активности и процессов, связанных с обучением и памятью. Дисфункция холинергической системы наблюдается при нейродегенеративных заболеваниях,

в частности при болезни Альцгеймера. При этом уменьшается активность АХЭ в нейронах коры больших полушарий, гиппокампа и миндалины, снижается биосинтез АХ и обратный захват холина, отмечается разрушение холинергических нейронов базальных ядер и уменьшение количества н-холинорецепторов в нейронах гиппокампа. В ходе развития болезни Паркинсона отмечается гиперактивность нейронов полосатого тела как следствие снижения активности дофаминергических структур среднего мозга, а при хорее Хантингтона, напротив, потеря нейронов *corpus striatum*;

- *обеспечение нервно-мышечной передачи* — иннервация поперечно-полосатой мускулатуры осуществляется отростками холинергических нейронов передних рогов спинного мозга или двигательных ядер черепных нервов. Рецепторы концевых пластинок относятся к n_m -холинорецепторам. Их аутоиммунная дегенерация приводит к развитию миастении (*Myastenia gravis*), выражающейся в мышечной слабости вследствие нарушения холинергической передачи, а антихолинэстеразные вещества обладают выраженным терапевтическим действием у больных с данным заболеванием.

3.2.2. ГИСТАМИН

Локализация в организме млекопитающих. Основным источником гистамина служат базофильные лейкоциты и тучные клетки, выделяющие данное вещество в ответ на действие различных аллергенов. Гистамин является классическим представителем «тканевых» гормонов.

Биологическая активность гистамина была продемонстрирована Г. Дэйлом в начале XX века. К 1940 г. сложилось мнение, что серотонин выполняет нейромедиаторные функции, а не только опосредует протекание аллергических реакций. Этому способствовала его идентификация в ЦНС. При этом серотонин не способен проникать через гематоэнцефалический барьер, представляя собой нейромедиатор *per se*.

В ЦНС гистаминергические нейроны расположены (рис. 190) в ядрах серого бугра и соседних тел гипоталамической области промежуточного мозга. Их коллатерали достигают районов конечного мозга (кора больших полушарий и гиппокамп), таламуса, ствола мозга (центральное серое вещество среднего мозга, ядро солитарного тракта).

В мозге гистамин также содержится в тучных клетках интерстиция. При этом период полураспада в них гистамина вдвое больше периода полураспада в нейронах. Предполагается, что тучные клетки интерстиция вовлечены в регуляцию проницаемости стенки кровеносных сосудов.

Метаболизм. Гистамин образуется (рис. 191) в результате декарбоксилирования аминокислоты L-гистидина под действием L-гистидиндекар-

боксилазы. Ее активность служит лимитирующим фактором накопления гистамина в тканях. Время полураспада синтезированного нейронного гистамина составляет около 30 мин.



Рис. 190. Распределение гистаминергических нейронов и их связи в мозге крысы

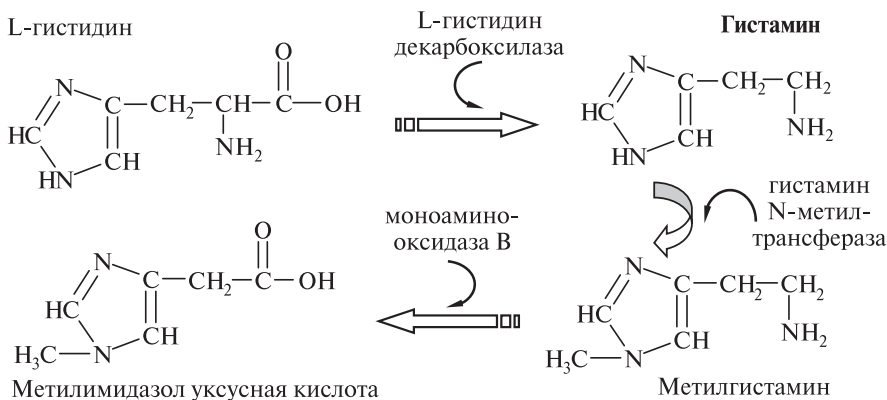


Рис. 191. Метаболизм гистамина

Известно, что под действием седативных препаратов обновление нейронной фракции гистамина замедляется, а стимуляция NMDA-рецепторов и μ -опиоидных рецепторов, напротив, усиливает этот процесс.

Гистамин накапливается в синаптических везикулах посредством механизма с выраженной чувствительностью к действию резерпина и высвобождается из нервных терминалей Ca^{2+} -зависимым образом. Инактивация

гистамина происходит посредством широко распространенного фермента — гистамин N-метилтрансферазы с последующим окислением и дезаминированием метилгистамина до имидазолуксусной кислоты при помощи моноаминоксидазы В. Механизмы высокоаффинного обратного захвата гистамина в нейроны не известны.

Рецепторы и передача сигнала внутрь клетки. Изначально выделяли три подтипа гистаминовых рецепторов на основании их фармакологических свойств (табл. 7), локализации в области синапса и опосредуемых биологических эффектов. Гистаминовые рецепторы H_4 -типа были обнаружены в 2000 г. при изучении базы данных генома человека.

Таблица 7

Агонисты и антагонисты гистаминергической передачи

Тип рецептора	H_1	H_2	H_3	H_4
Агонист	(трифлюорометилфенил)-гистамин	Импромидин	(R)- α -Метилгистамин	4-Метилгистамин
Антагонист	Мепирамин	Циметидин	Тиоперамид	Тиоперамид

Все они принадлежат к суперсемейству рецепторов, связанных с G-белками (метаботропные рецепторы).

H_1 -рецепторы представляют собой гликопротеин из 490 аминокислотных остатков, расположенный на мембране постсинаптических клеток. Наибольшая плотность H_1 -рецепторов отмечена в таламусе, пирамидальном слое гиппокампa, а также слое клеток Пуркиньи в мозжечке. Действие гистамина реализуется посредством увеличения продукции цАМФ и концентрации внутриклеточного кальция.

Антагонисты этой группы рецепторов относятся к группе антигистаминовых препаратов, успешно используемых при терапии аллергических заболеваний. К сожалению, проникая через гематоэнцефалический барьер, они оказывают нежелательное побочное седативное действие, связанное с блокадой гистаминовых рецепторов мозга.

H_2 -рецепторы — гликопротеин, состоящий из 358 аминокислотных остатков и демонстрирующий 40 %-ю гомологию с H_1 -рецепторами. Они также расположены на постсинаптической мембране нейронов хвостатого ядра, скорлупы, миндалины и коры больших полушарий, а также клеток глии. Поскольку H_2 -рецепторы связаны с G_s -белками, то их активация приводит к увеличению внутриклеточной концентрации цАМФ. Большинство селективных антагонистов H_2 -рецепторов не способно пересекать гематоэнцефалический барьер.

Выделение **H_3 -рецепторов** в отдельную группу проведено на основании фармакологических свойств. Они располагаются в мембране пресинаптических терминалей (ауторецепторы), участвуя в регуляции синтеза и вы-

деления гистамина. В то же время их активация приводит к торможению секреции других нейромедиаторов — АХ, дофамина, серотонина и норадреналина. H_3 -рецепторы обнаружены в участках лобной доли коры, базальных ядрах и *substantia nigra* среднего мозга. Внутриклеточные эффекты обусловлены активацией G_i -белков.

Экспрессия **H_4 -рецепторов** — отмечена в клетках гематопоэтического пути. Могут существовать как в мономерной (~45 кДа), так и димерной (85 кДа) или олигомерной (>250 кДа) формах. Показано их роль в хемотаксисе.

Биологические эффекты гистамина. Гистамин является основным медиатором процессов воспаления и аллергических реакций в организме. Выделяемый нейронами гистамин участвует в регуляции мозгового кровообращения и проницаемости стенок кровеносных сосудов мозга.

Подтверждено участие гистамина в контроле сна и бессонницы, его вовлечение в регуляцию энергетического баланса, температуры тела, потребления пищи, а также различных эмоциональных состояний вследствие обширной гистаминергической иннервации компонентов лимбической системы. Значительное уменьшение числа гистаминергических нейронов отмечается при развитии болезни Альцгеймера.

Некоторые изменения поведения под действием диэтиламида лизергиновой кислоты (LSD) частично обусловлены блокадой H_2 -рецепторов.

Активация H_1 - и H_2 -рецепторов сердечно-сосудистой системы приводит к выраженным изменениям ее работы. Так, увеличивается частота сердечных сокращений (H_2), происходит вазодилатация, а в сосудах микроциркуляторного русла вследствие сокращения актиновых филаментов эндотелиальных клеток, приводящего к увеличению просвета между последними, наблюдается повышение их проницаемости (H_1). Гистамин вызывает сокращение гладких мышц кишечника и сильный бронхоспазм, однако он не оказывает значительного действия на гладкую мускулатуру глаза и мочеполового тракта. Известно, что гистамин стимулирует желудочную секрецию посредством активации H_2 -рецепторов париетальных клеток желудка.

3.2.3. СЕРТОНИН

Локализация в центральной нервной системе млекопитающих. Серотонин (5-гидрокситриптамиин, 5-НТ) представляет собой биогенный амин и наряду с катехоламинами относится к группе моноаминовых нейромедиаторов.

В 1947 г. было открыто вещество, обладающее вазоконстрикторными свойствами, названное серотонином (от *serum* — сыворотка и *vasotonic* — вазотонический), идентифицированное (1951) с энтерамином, известным стимулятором гладких мышц кишечника (у млекопитающих до 90 % всего серотонина находится в эн-

терохромаффинных клетках желудочно-кишечного тракта). Схожесть эффектов серотонина и LSD заставила предположить его центральное действие, но только развитие флуоресцентных и иммуногистохимических методов позволило (60-е гг. XX века) идентифицировать серотонин в качестве нейромедиатора.

В ЦНС серотонинергические нейроны (рис. 192) преимущественно локализованы в верхних отделах ствола мозга, вдоль его центральной оси в так называемых ядрах шва (*raphe nuclei*).

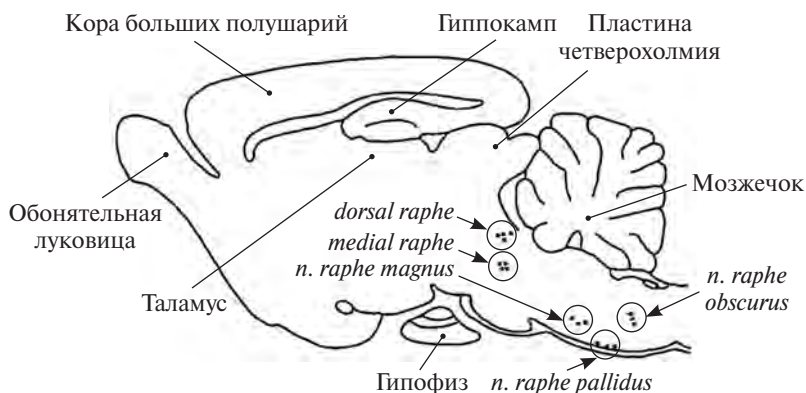


Рис. 192. Распределение серотонинергических нейронов в мозге крысы

Изначально насчитывали 9 серотонинсодержащих ядер (B1–B9), объединенных в две группы в зависимости от их положения: нижнюю (B1–B4) — в начальных отделах ствола и верхнюю (B5–B9), расположенную роstralнее.

Отростки серотонинергических нейронов обнаруживаются в мозге почти повсеместно (кора больших полушарий, гиппокамп, базальные ядра конечного мозга, верхние холмики среднего мозга, студенистое вещество и передние рога спинного мозга), хотя их плотность и не особенно велика.

Метаболизм. Исходным составляющим для синтеза серотонина является незаменимая аминокислота триптофан, поступающая в организм с пищей. Дальнейшее ее проникновение в мозг, т. е. пересечение гематоэнцефалического барьера, происходит посредством облегченного транспорта. При этом триптофановый транспортер не обладает высокой степенью специфичности, будучи способным к переносу и других нейтральных аминокислот — фенилаланина, метионина, лейцина и лизина, выступающих в роли конкурентных ингибиторов синтеза серотонина. Поступление в нейроны также контролируется работой неспецифического переносчика для нейтральных аминокислот. В присутствии кислорода и донора водородов (тетрагидроптерина) индольное кольцо триптофана гидроксилируется по C5-положению

под действием триптофангидроксилазы до 5-гидрокситриптофана (5-НТР). Эта стадия является лимитирующей при синтезе серотонина. В дальнейшем 5-НТР декарбоксилируется при участии декарбоксилазы ароматических аминокислот непосредственно до серотонина (рис. 193).

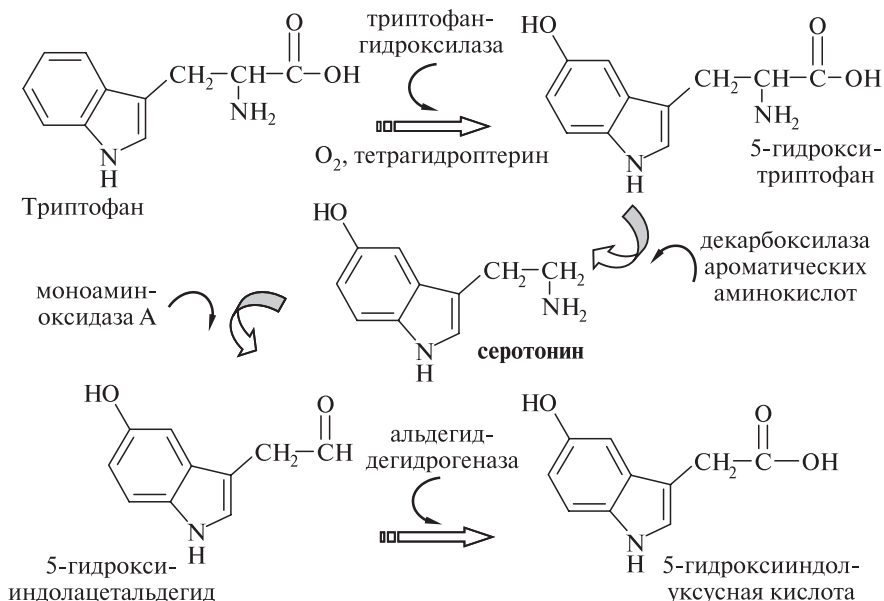


Рис. 193. Метаболизм серотонина

В отличие от триптофангидроксилазы декарбоксилаза ароматических аминокислот встречается не только в серотонинергических нейронах. Она также катализирует реакцию превращения дигидроксифенилаланина (ДОФА) в дофамин в соответствующих клетках (см. далее по тексту этой главы).

Серотонин переносится в синаптические пузырьки при помощи общего для всех моноаминов транспортера (VMAT), структурно и функционально сходного с таковым для ацетилхолина. Инактивация серотонина в синаптической щели происходит в основном посредством обратного захвата. Na⁺/Cl⁻-зависимый котранспортер для серотонина (SERT) состоит из 12 трансмембранных доменов, N- и С-терминали ориентированы в цитозоль, а на внеклеточных участках обнаружено несколько мест для гликозилирования. Кроме того, существует механизм ферментативного распада серотонина до 5-гидроксииндол-ацетальдегида (при участии моноаминоксидазы А) и последующего его окисления до 5-гидроксииндолуксусной кислоты (при участии альдегиддегидрогеназы), которая выводится с мочой из организма.

Действие многих антидепрессантов, таких как дезипрамин, флуоксетин (Prozac) или пароксетин (Paxil), основано на ингибировании обратного захвата серотонина в синаптической щели.

Рецепторы и передача сигнала внутрь клетки. Существует семь подтипов рецепторов к серотонину, выделенных на основании результатов молекулярного клонирования (дальнейшее их разделение основано на структурных различиях и фармакологических свойствах).

Рецептор 5-HT_8 обнаружен у бабочки *Pieris rapae*, но не встречается у млекопитающих и имеет низкую гомологию с другими подтипами рецепторов к серотонину.

К ним относят:

- **5- HT_1 -рецепторы** в свою очередь состоят из пяти подтипов (A, B, D, E, F). Для всех них характерно высокое сродство к серотонину. Семейство 5-HT_1 -рецепторов относится к метаботропным рецепторам, связанным с G_o - и G_i -белками, т. е. их стимуляция приводит к снижению уровня цАМФ внутри клетки. Этой группой опосредуются различные тормозные эффекты, обусловленные увеличением калиевой или снижением кальциевой проводимости, встречаются в различных областях головного мозга;

Первоначально выделенные рецепторы 5-HT_{1C} -подтипа в последующем были отнесены к семейству 5-HT_2 -рецепторов.

Аминокислотная последовательность 5-HT_1 -рецепторов насчитывает от 365 (5-HT_{1E}) до 422 (5-HT_{1A}) остатков с не менее чем 50 %-й гомологией между подтипами. Для D-подтипа, кроме того, характерно наличие двух изоформ. Рецепторы 5-HT_{1A} и 5-HT_{1D} человека относятся к ауторецепторам (у крыс это подтипы 5-HT_{1A} и 5-HT_{1B}), расположенным преимущественно на теле и дендритах серотонинергических нейронов. Их активация приводит к уменьшению выброса серотонина в синаптическую щель. Остальные подтипы серотониновых рецепторов локализованы на участках постсинаптической мембраны.

- **5- HT_2 -рецепторы** представляют собой гликопротеины, состоящие из 460—480 аминокислотных остатков в зависимости от подтипа (A, B, C). Это рецепторы постсинаптических мембран, связанные с G_q -белками и активацией фосфолипазы C. Их стимуляция вызывает медленно развивающееся возбуждение (деполяризацию мембраны), опосредуемое снижением калиевой проводимости и увеличением неспецифической ионной проводимости.

- **5- HT_3 -рецепторы** в отличие от всех остальных серотониновых рецепторов относятся к ионотропным рецепторам. Рецептор состоит из пяти субъединиц по 487 аминокислотных остатков в каждой, организованных в четыре трансмембранных домена, с которыми трансмембранный домен образует пору канала (рис. 194).

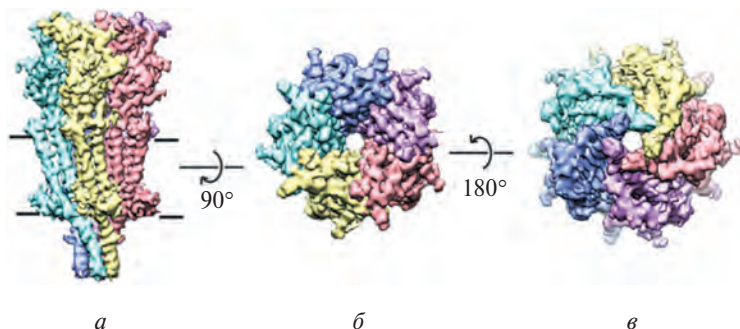


Рис. 194. Субъединичное строение 5-НТ₃-рецептора (по Basak с.а., 2018):
а — вид с боку; б — вид с внеклеточной стороны; в — вид со стороны цитозоля

Его активация приводит к увеличению проницаемости мембраны для Na^+ и K^+ , т. е. деполяризации соответствующего нейрона. Рецепторы 5-НТ₃ характерны исключительно для нейронов ЦНС, где их плотность максимальна в продолговатом мозге (*area postrema*), обонятельной коре и миндалине.

- **5-НТ₄-рецептор** — известно два рецептора такого подтипа, возникающих вследствие альтернативного сплайсинга исходной кодирующей их последовательности РНК. В обоих случаях речь идет о метаботропных рецепторах, ассоциированных с G_s -белком. Активация аденилатциклазы вызывает увеличение уровня цАМФ и последующее уменьшение калиевой проводимости, т. е. опосредует возбуждение. Характерны преимущественно для нейронов гиппокампа.

- **5-НТ₅, 5-НТ₆, 5-НТ₇-рецепторы** относятся к метаботропным рецепторам, контролирующим посредством G-белка аденилатциклазную систему. Были идентифицированы в результате молекулярного клонирования. Демонстрируют различную степень гомологии с другими семействами серотониновых рецепторов — от 40 (5-НТ₆) до 88 (5-НТ₅) %, будучи образованными, в зависимости от типа, 350–450 аминокислотами. Области локализации — различные отделы головного мозга.

Биологические эффекты серотонина. Серотонинергические системы мозга вовлечены в модуляцию различных биологических функций, прежде всего благодаря широкому представительству рецепторов в различных областях ЦНС. Наибольшему влиянию подвержены половое и пищевое поведение, эмоциональное состояние организма, процессы обучения и памяти. Так, распределение серотониновых рецепторов в мозге различно у мужских и женских особей. Повышенная экспрессия 5-НТ_{2C}-рецепторов вызывает увеличение массы тела, а применение их селективного антагониста (кетансерин) вызывает снижение аппетита. Отмечено участие серотонинергиче-

ских систем и в механизмах модуляции болевых ощущений (ноницепции). Серотонин связан с развитием состояний тревоги, депрессии и различных фобий, обусловленных снижением его уровня в мозге. Их успешная терапия связана с использованием ингибиторов обратного захвата серотонина (трициклических антидепрессантов). Частичная гибель серотонинергических нейронов коры наблюдается при болезни Альцгеймера.

Серотонин является мощным сосудосуживающим агентом (за исключением сосудов сердца и скелетных мышц) благодаря влиянию на гладкомышечные клетки их стенок. Он повышает тонус мускулатуры желудочно-кишечного тракта и усиливает перистальтику, но почти не влияет на секрецию пищеварительных желез. Влияние на гладкие мышцы дыхательных и мочевыводящих путей выражено слабо.

3.2.4. КАТЕХОЛАМИНЫ

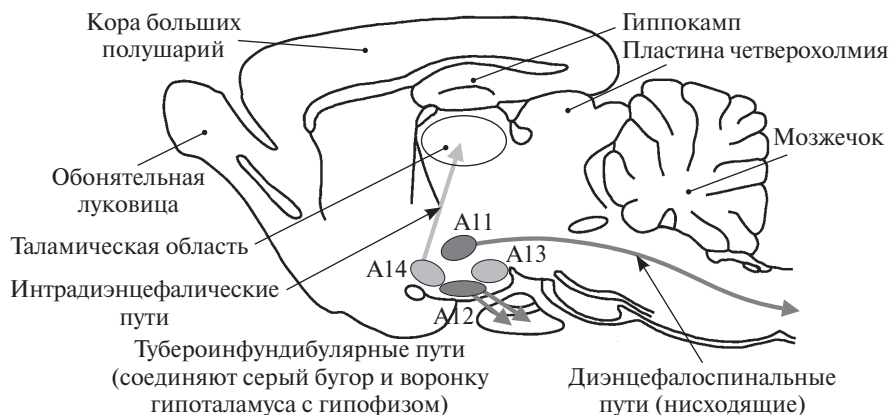
Локализация в центральной нервной системе млекопитающих. К группе катехоламинов относятся вещества, содержащие бензольное кольцо с двумя гидроксильными группами и один этиламин, т. е. они тоже являются моноаминами — **дофамин, норадреналин и адреналин**. Их также объединяет «общность происхождения» — предшественником синтеза служит аминокислота тирозин.

Успешный химический синтез дофамина был осуществлен в 1910 г. Тем не менее это вещество долгое время считалось метаболическим предшественником норадреналина, пока не было обнаружено, что нейроны некоторых областей мозга (*substantia nigra* и *corpus striatum*) содержат дофамин и не содержат норадреналина. В 1989 г. дофамин был обнаружен и в периферической нервной системе. Еще в 1921 г. О. Леви, исследуя нервную регуляцию деятельности сердца, обнаружил вещество, увеличивающее частоту и силу сокращений, и назвал его *accelerance*, т. е. усилителем. Впоследствии (1936) оно было идентифицировано как адреналин. Поскольку норадреналин является предшественником синтеза адреналина, то вплоть до 40-х гг. XX века его не считали «самостоятельным» нейромедиатором.

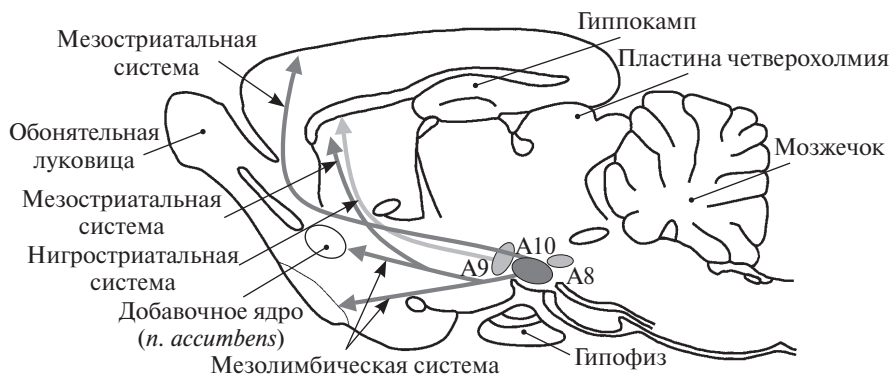
Разработка Б. Фалком и Н. Хилларпом (Falck & Hillarp, 1962) одноименного флуоресцентного метода, а также использование иммуногистохимических методов позволили выявить распределение моноаминергических нейронов в организме. Результаты проведенной работы показали, что норадреналинергические нейроны преимущественно сосредоточены в ЦНС, а адренергические — на периферии.

Дофамин. Дофаминергические нейроны ЦНС условно разделены на три группы, выделяемые на основании длины отростков этих клеток (рис. 195).

1. **Нейроны с ультракороткими проекциями** — амакиноподобные клетки сетчатки и некоторые нейроны обонятельных лукович, характеризующиеся наличием слабо развитых отростков (дендритов).



а



б

Рис. 195. Распределение дофаминергических нейронов с короткими связями (а) и дофаминергических нейронов с длинными проекциями (б), а также направление хода их отростков и области иннервации в мозге крысы

2. Нейроны с короткими проекциями — в свою очередь, распадаются на три дополнительных подтипа (рис. 195, а):

— *нейроны дугообразных ядер гипоталамуса* (A_{12}), дающие отростки к гипофизу и срединному возвышению гипоталамуса;

— *внутренние нейроны промежуточного мозга*: нейроны заднего гипоталамуса (A_{11}), *zona incerta* (A_{13}), нейроны, прилежащие к паравентрикулярному ядру гипоталамуса (A_{14});

— *нейроны ядер солитарного тракта и серого вещества*, расположенного вокруг водопровода среднего мозга.

3. Нейроны с длинными проекциями — расположены в районе среднего мозга (рис. 195, б): позади красного ядра (A_8), в черном веществе (A_9), нижней части покрышки (*ventral tegmental area*, A_{10}). Отсюда их проекции достигают неостриатума (хвостатое ядро и скорлупа), лимбической коры и ряда нижележащих структур лимбической системы (перегородка мозга, прилежащее ядро и миндалина), образуя нигростриатальную, мезокортикальную и мезолимбическую системы.

Проекции групп A_8 — A_{10} к добавочному ядру образуют мезостриатальную дофаминергическую систему, а общие проекции этих нейронов в промежуточном мозге формируют мезотеленцефальную дофаминергическую систему.

Помимо этого, указанные нейроны осуществляют иннервацию и других районов мозга. Отмечено также существование и нисходящих дофаминергических проекционных путей.

Норадреналин и адреналин. Нейроны, содержащие норадреналин, сконцентрированы в области моста заднего мозга (рис. 196).

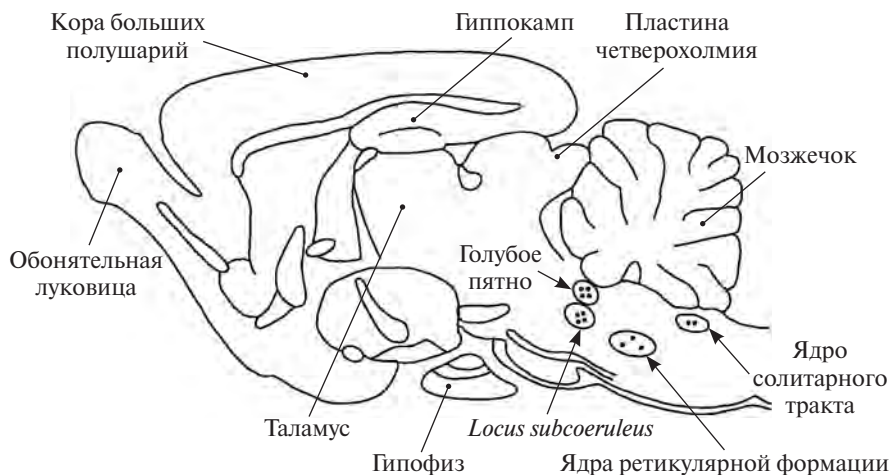


Рис. 196. Распределение норадреналинергических нейронов в мозге крысы

Основное место залегания — голубое пятно (*locus coeruleus*), в котором сосредоточено примерно половина (3000) всех норадреналинергических нейронов мозга. Они также представлены в районе *locus subcoeruleus* (A_5 , A_6 , A_7), ретикулярной формации (A_1), ядрах солитарного тракта (A_2). Для последних двух регионов характерно наличие адренергических нейронов — группы C_1 и C_2 соответственно.

Аксоны клеток голубого ядра направляются в кору больших полушарий, гиппокамп, таламус, гипоталамус, мозжечок и спинной мозг, при

этом ипсилатеральные проекции преобладают над контрлатеральными. Терминали групп A_1 и A_2 направляются в таламус и миндалину. Отростки адренергических нейронов достигают некоторых гипоталамических ядер спинного мозга.

Большинство симпатических постганглионарных волокон выделяют норадреналин, а основным источником адреналина на периферии служат хромаффинные клетки мозгового вещества надпочечников, являющиеся гомологами постганглионарных симпатических нейронов. Некоторые периферические симпатические волокна выделяют и дофамин.

Метаболизм катехоламинов. Предшественники биосинтеза катехоламинов аминокислоты фенилаланин и тирозин (может быть получен из фенилаланина под действием фенилаланингидроксилазы) способны легко проникать через гематоэнцефалический барьер. Синтез дофамина из тирозина происходит в две стадии (рис. 197).

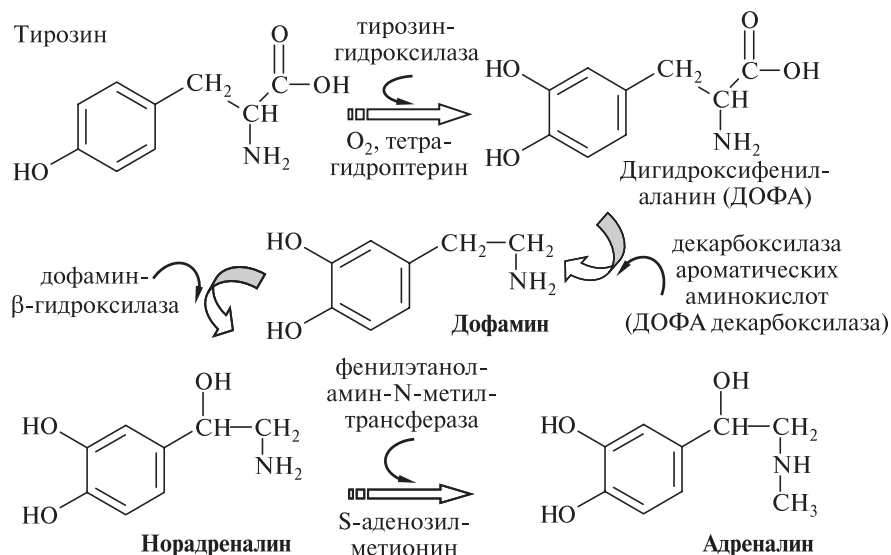


Рис. 197. Биосинтез катехоламинов

На первой стадии, лимитирующей скорость реакции, тирозин превращается в дигидроксифенилаланин (ДОФА) под действием *тирозингидроксилазы*. В качестве кофакторов тирозингидроксилаза использует тетрагидроптерин, и кислород и не является субстратзависимым ферментом — увеличение концентрации тирозина не приводит к увеличению продукции ДОФА. Ее активность регулируется по принципу отрицательной

обратной связи — повышенные концентрации катехоламинов ингибируют активность тирозингидроксилазы. Впоследствии декарбоксилирование ДОФА под действием цитозольной ДОФА-декарбоксилазы (декарбоксилазы ароматических аминокислот) приводит к образованию дофамина. При этом повышение концентрации ДОФА увеличивает продукцию дофамина. Благодаря транспортеру биогенных аминов (VMAT) дофамин поступает в синаптические везикулы.

Дофамин под действием *дофамин-β-гидроксилазы* превращается в норадреналин. Этот фермент является специфическим маркером адренергических нейронов, позволяя отличать их при помощи иммуногистохимических методов от дофаминсодержащих клеток. Дофамин-β-гидроксилаза может быть ассоциирована с мембраной синаптических пузырьков. В этом случае синтез норадреналина происходит после поступления дофамина в везикулы. В противоположность этому норадреналин, синтезированный в цитозоле, переносится в синаптические пузырьки посредством транспортера.

В некоторых клетках норадреналин может подвергаться дальнейшему превращению в адреналин под действием *фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы* (донором метильной группы выступает S-аденозилметионин). В качестве комедиатора катехоламинергические везикулы могут содержать АТФ.

В биосинтезе катехоламинов существуют и другие пути, приводящие к образованию конечных продуктов (норадреналина и адреналина). У человека их функциональное значение не выражено (*следовые амины*), но у ряда животных промежуточные метаболиты (например, октопамин) могут выступать в качестве нейромедиатора.

Выделение катехоламинов соответствует классической для нейромедиаторов схеме. Их избыток в синаптической щели удаляется посредством обратного захвата. Переносчик для дофамина (DAT) представляет собой гликопротеин молекулярной массой 70 кДа (619 аминокислот), организованный в 12 трансмембранных доменов и использующий концентрационный градиент Na^+ и Cl^- для симпорта дофамина в клетку — 80 % высвобожденного дофамина подвергается обратному захвату. Гликопротеин не находится в активной зоне синапса, но его расположение ограничено областью пресинаптических терминалей.

Обратный захват норадреналина возможен благодаря наличию специального переносчика (NET), сходного с таковым для дофамина как структурно, так и по механизму переноса нейромедиатора.

Известны и ферментативные системы распада катехоламинов — *моноаминооксидаза* (MAO), расположенная внутри митохондрий, и цитозольная *катехол-O-метилтрансфераза* (КОМТ). Под их действием (рис. 198) дофамин в итоге преобразуется в гомованилиновую кислоту, а норадреналин (адреналин) — в 3-метокси-4-гидроксиминдальную кислоту.

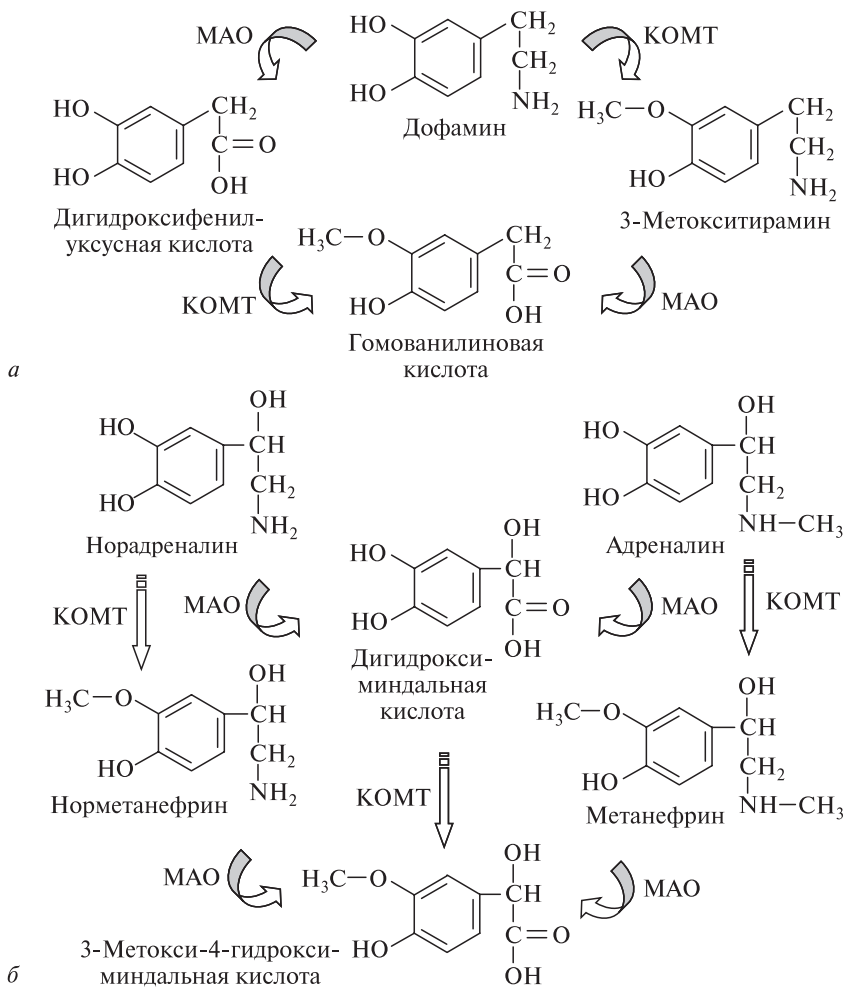


Рис. 198. Ферментативный распад катехоламинов:
a – дофамина; *б* – норадреналина и адреналина

Блокаторы переносчиков катехоламинов обладают выраженным фармакологическим действием. Так, резерпин ингибирует работу везикулярного транспортера для дофамина, постепенно приводя к истощению депо катехоламинов в клетке, а кокаин и амфетамины инактивируют переносчики, ответственные за обратный захват катехоламинов – как следствие, пролонгируется их действие на мембрану постсинаптической клетки, что лежит в основе психостимулирующего эффекта антидепрессантов.

Рецепторы и передача сигнала внутрь клетки

Рецепторы к дофамину. Все они относятся к метаботропным рецепторам с наличием характерных семи трансмембранных доменов. На основании биохимических и фармакологических свойств пять типов дофаминергических рецепторов ($D_1 - D_5$) разделяют на две группы:

- **D_1 -группа** — характеризуется наличием короткой третьей внутриклеточной петли и длинной С-терминалью в структуре рецептора. Они связаны с G_s -белками и активируют аденилатциклазу. Рецепторы D_1 -группы расположены на постсинаптической мембране. К ним относятся собственно D_1 -рецепторы (1A) и D_5 -рецепторы (1B), состоящие из 446 и 476 аминокислот соответственно. D_1 -рецепторы находятся на мембране *молодых* нейронов полосатого тела, миндалины, таламуса, гипоталамуса, среднего мозга и ствола мозга и не встречаются у зрелых нейронов. Распространение высокоаффинных к дофамину D_5 -рецепторов ограничено областью гиппокампа и таламуса;

- **D_2 -группа** — характеризуется наличием длинной третьей внутриклеточной петли и короткой С-терминалью в структуре рецептора. Они связаны с G_i -белками и ингибируют аденилатциклазу. К ней относятся собственно D_2 -рецепторы (2A), D_3 - и D_4 -рецепторы (2B и 2C), каждый из которых представлен несколькими изоформами.

D_2 -рецепторы относятся к ауторецепторам, расположенным на мембране нервных окончаний, где их активация приводит к уменьшению выхода дофамина, или на мембране отростков и/или тела клетки. В последнем случае их стимуляция вызывает усиление импульсации дофаминергических нейронов, т. е. увеличение выхода дофамина. Различные варианты сплайсинга кодирующей их образование молекулы РНК вызывают появление двух изоформ — короткой (D_{2S}) и длинной (D_{2L}), состоящих из 415 и 444 аминокислот, ответственных за развитие десенситизации. D_2 -рецепторы распространены в нейронах гиппокампа, полосатого тела, гипоталамуса, среднего и спинного мозга.

Характерной особенностью состоящего из 446 аминокислот D_3 -рецептора является его слабая взаимосвязь с G-белком. Этот подтип широко представлен в нейронах голубого пятна, полосатого тела и черного вещества. D_4 -рецептор состоит из 368 аминокислот (у крыс) и дополнительно экспрессируется в нейронах мозжечка.

Рецепторы к норадреналину (адреналину). Известны как адренорецепторы. На существование двух типов адренорецепторов (α и β) указал Р. Алквист (Ahlquist, 1948), выделивший их на основании различий в ряду активности адреномиметических средств (адреналин — норадреналин — изопротеренол). Все они относятся к метаботропным рецепторам, различаясь по тому, какой вторичный посредник они используют:

• **α -адренорецепторы**, характеризуются следующим рядом активности: адреналин $\geq$ норадреналин $\gg$ изопротеренол. В зависимости от типа G-белка, с которым они связаны, выделяют:

– **α_1 -адренорецепторы**: сильно восприимчивы к действию празосина. Представлены тремя подтипами — α_{2A} , α_{1B} и α_{1D} (ранее клонированный подтип α_{1C} оказался идентичным α_{2A}), каждый из которых связан с G_q -белком, стимуляция которого вызывает активацию фосфолипазы C и продукцию инозитолтрифосфата и диацилглицерола. Расположены на постсинаптической мембране;

– **α_2 -адренорецепторы**: известно три подтипа — α_{2A} , α_{2B} и α_{2C} (у крыс и мышей, кроме того, обнаружен α_{2D} -подтип, демонстрирующий высокую степень гомологии с α_{2A} -подтипом человека). Ранее считалось, что α_2 -адренорецепторы связаны с G_i -белком, однако это оказалось справедливым лишь в отношении α_{2C} -подтипа, в то время как стимуляция рецептора α_{2B} -подтипа, напротив, приводит к активации аденилатциклазы, а рецепторы α_{2A} -подтипа ингибируют образование цАМФ при низких концентрациях агониста и увеличивают его продукцию при высоких концентрациях адреналина, а также способны стимулировать некоторые протеинкиназы. При этом α_2 -адренорецепторы преимущественно локализованы на пресинаптической мембране нейронов (ауторецепторы);

• **β -адренорецепторы**, характеризуются следующим рядом активности: изопротеренол $>$ адреналин $\geq$ норадреналин.

Изначально были выделены два подтипа: β_1 - и β_2 -подтипы, различающиеся по степени сродства к норадреналину и адреналину. Так, β_1 -рецепторы имеют к этим веществам одинаковое сродство, а для β_2 -рецепторов характерен более высокий аффинитет к адреналину. Кроме того, рецепторы первого подтипа экспрессируются преимущественно в нейронах, тогда как β_2 -рецепторы характерны и для клеток нейроглии.

Методом молекулярного клонирования был обнаружен и рецептор β_3 -подтипа (преимущественно на мембране клеток жировой ткани), обладающий весьма слабым сродством к природным агонистам (атипичный β -адренорецептор). Все β -адренорецепторы связаны с G_s -белками и подвержены десенситизации вследствие их фосфорилирования специфическими протеинкиназами.

Биологические эффекты катехоламинов. Дофамин вовлечен в регуляцию множества функций организма. В частности, неоспоримо участие дофаминергических систем мозга в модуляции артериального давления, когнитивных процессах, контроле тревожных состояний и, конечно же, двигательной активности. Именно нигростриатальная система ответственна за инициацию и контроль локомоторных проявлений жизнедеятельности.

Потеря дофаминергических нейронов среднего мозга (*substantia nigra*) приводит к развитию болезни Паркинсона, выражающейся в нарушении

тормозного контроля за сокращением поперечно-полосатой мускулатуры. При этом гибнет не менее 80 % популяции нейронов, содержащих дофамин. Дефицит дофамина отмечен и при болезни Альцгеймера, а также при шизофрении. Напротив, гиперактивность дофаминергических систем мозга наблюдается при развитии маниакальных состояний и галлюцинаций. Модуляция автономных центров гипоталамуса под действием дофамина вызывает изменения в потреблении пищи и воды, гормонального статуса (из-за опосредованного действия на гипофиз).

Проекции нейронов голубого пятна входят в состав восходящей ретикулярной активирующей системы, регулирующей внимание, возбуждение и циркадные ритмы. На периферии адренергическая система обуславливает функционирование симпатического отдела вегетативной нервной системы, эффекты различных стрессорных воздействий на организм. Прежде всего это контроль за работой сердечно-сосудистой системы, а также влияние на промежуточный обмен — усиление глюконеогенеза в печени и др.

3.2.5. АМИНОКИСЛОТНЫЕ НЕЙРОМЕДИАТОРЫ

Локализация в центральной нервной системе млекопитающих. *Нейтральные* (ГАМК и глицин) и *кислые* (глутамат и аспартат) аминокислоты присутствуют в высоких концентрациях в ЦНС, выступая в качестве полноправных нейромедиаторов. Первая группа относится к *тормозным*, а вторая — к *возбуждающим аминокислотам*.

γ -Аминомасляная кислота была открыта в 1883 г., однако только в середине 50-х гг. XX века была доказана ее нейромедиаторная роль. Оказалось, что около 30 % синапсов в ЦНС являются ГАМК-ергическими, а сама ГАМК — основным тормозным медиатором в ЦНС. Нейромедиаторная роль глицина была установлена на десять лет позже — в 1960—1970-х гг. До этого времени ему не придавали особого значения в процессах межклеточной сигнализации вследствие широкого распространения и примитивной химической структуры, считая глицин простым участником белкового метаболизма.

Схожая ситуация сложилась и по отношению к возбуждающим аминокислотам, долгое время считавшимся промежуточными метаболитами клетки. Так, высвобождение глутамата в центральных синапсах было доказано только в 1984 г., несмотря на то, что его нейромедиаторная роль в синапсах ряда беспозвоночных была установлена десятилетием раньше.

γ -Аминомасляная кислота (ГАМК). В некоторых областях мозга количество клеток, содержащих ГАМК, весьма велико. Считается, что около $\frac{1}{3}$ всех синапсов ЦНС относятся к ГАМК-ергическим. Так, около 95 % нейронов полосатого тела — это ГАМК-ергические нейроны. Они также широко представлены среди клеток бледного шара, ретикулярной части черного вещества среднего мозга, мозжечка (клетки Пуркинье), часто встречаются

среди клеток таламуса, гиппокампа и коры больших полушарий. Много-
численные ГАМК-ергические терминалы подходят к нейронам бледного
шара, ядрам верхних холмиков среднего мозга и ножкам мозга (рис. 199).



Рис. 199. Распределение ГАМК_В-рецепторов в мозге крысы
(по Bettler e. a., 2004):

CP — хвостатое ядро и ограда; OB — обонятельная луковица;
а — мРНК ГАМК_{В1}-рецепторов; б — мРНК ГАМК_{В2}-рецепторов

Глицин. В высоких концентрациях обнаруживается в спинном мозге, продолговатом мозге и мосту. В более низких концентрациях глицин обнаружен в мозжечке и переднем мозге. В интернейронах задних рогов спинного мозга наблюдается колокализация ГАМК и глицина. Указанные нейромедиаторы выделяются и реализуют свое постсинаптическое действие одновременно.

Глутамат и аспарат. Наибольшее значение для организма имеет распространение глутаматергических нейронов в пределах ЦНС (рис. 200).

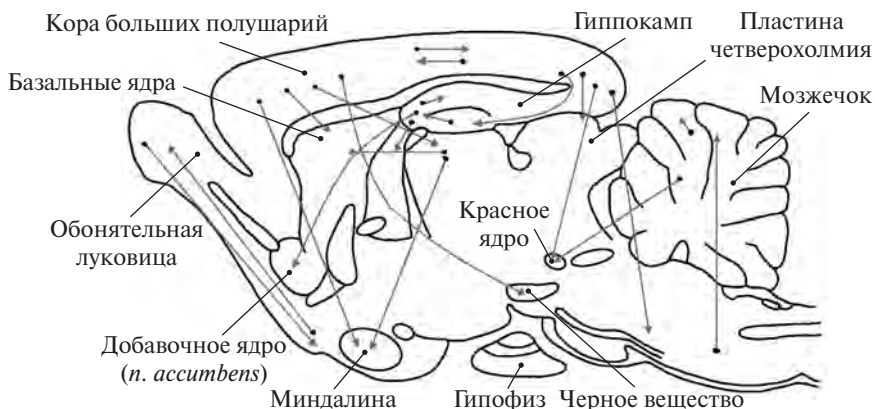


Рис. 200. Глутаматергические пути в мозге крысы

Особенно широко они представлены в коре больших полушарий, откуда их проекции достигают гиппокампа, хвостатого ядра, миндалины, прилежащего ядра, верхних холмиков и красного ядра среднего мозга, ядер моста. Второе крупное скопление глутаматергических нейронов встречается в гиппокампе. Отсюда их отростки направляются к клеткам гипоталамуса, добавочного ядра и латеральной перегородки.

Установлено, что некоторые проекции гиппокампальных нейронов относятся к аспартатергическим, а аспартатсодержащие клетки встречаются преимущественно в промежуточном мозге (таламус и гипоталамус) и не характерны для ствола мозга.

Метаболизм тормозных и возбуждающих аминокислот

γ-Аминомасляная кислота (ГАМК). Она образуется при декарбоксилировании глутамата под действием *глутаматдекарбоксилазы* (GAD). Реакция протекает в присутствии пиридоксальфосфата (витамина B₆), выступающего в качестве кофактора. Существует две изоформы глутаматдекарбоксилазы, различающиеся по следующим признакам:

- *молекулярному весу*: GAD₆₅ (65 кДа) и GAD₆₇ (67 кДа), кодируемых двумя разными генами;
- *локализации внутри клетки*: GAD₆₅ преимущественно локализована в аксоне, а GAD₆₇ — в теле и дендритах нейрона;
- *сродству к пиридоксальфосфату*: низкое сродство и активность GAD₆₅ могут регулироваться доступностью этого кофактора. Высокое сродство GAD₆₇ позволяет этой изоформе фермента быть постоянно активной, обеспечивая тоническое высвобождение ГАМК. Ее регуляция осуществляется на уровне транскрипции.

Наличие двух изоформ глутаматдекарбоксилазы, активность которых регулируется посредством двух различных механизмов, позволяет осуществить тонкий контроль за уровнем ГАМК внутри клетки. ГАМК инактивируется за счет реакции трансаминирования с α-кетоглутаратом (α-КГ) под действием митохондриальной ГАМК-трансаминазы. В результате образуется глутамат и янтарный полуальдегид, превращающийся под действием одноименной дегидрогеназы в янтарную кислоту, которая утилизируется в цикле Кребса (рис. 201).

В синаптические пузырьки ГАМК поступает благодаря специфическому транспортеру, общему с глицином, состоящему из 10 трансмембранных доменов и использующему протонный градиент для «закачивания» медиатора в везикулы. Удаление ГАМК из синаптической щели происходит посредством обратного захвата благодаря работе переносчиков (GAT), расположенных как на мембране нейронов, так и глии. Выделяют две группы

[illegible]

301

Глицин. Биохимические пути синтеза и деградации глицина остаются малоизученными по сравнению с таковыми для других медиаторов. В ЦНС глицин образуется главным образом из другой аминокислоты — серина, источником которого, в свою очередь, служит глюкоза, точнее, гликолитический промежуточный продукт D-3-фосфоглицерат. В митохондриях *серингидроксиметилтрансфераза* катализирует превращение серина в глицин (рис. 202).

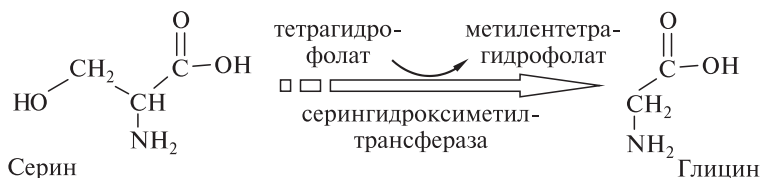


Рис. 202. Биосинтез глицина

Альтернативный путь синтеза — образование из изоцитрата посредством действия изоцитратлиазы и последующего трансаминирования глицин- α -кетоглутаратаминотрансферазой. Поступление глицина в везикулы опосредуется работой общего с ГАМК транспортера. Удаление глицина из синаптической щели осуществляется при помощи специфического транспортера (GLYT), имеющего 12 трансмембранных сегментов и демонстрирующего выраженную Na^+ -зависимость. Высокоаффинная система обратного захвата встречается в нейронах спинного и продолговатого мозга, моста, а низкоаффинная — в других областях мозга.

Глутамат и аспартат. Они синтезируются непосредственно в клетках мозга, так как не способны свободно проникать через гематоэнцефалический барьер. Глутамат образуется за счет восстановительного аминирования ионами NH_4^+ α -кетоглутарата при действии *глутаматдегидрогеназы*. Аспартат получается в результате переаминирования оксалоацетата посредством трансаминазы.

Для транспорта глутамата в синаптические пузырьки служит специфический транспортер, структурно и функционально схожий с таковым для других нейромедиаторов. Действие глутамата и аспартата в синаптической щели ограничивается работой транспортеров для возбуждающих аминокислот (ЕААТ). В настоящее время известно о существовании четырех представителей этой группы (ЕААТ₁ — ЕААТ₄) с молекулярной массой от 57 до 64 кДа, 10 трансмембранными сегментами и 50 %-й гомологией между друг другом (по отношению к другим транспортерам гомология гораздо меньше). В качестве движущей силы переноса аминокислот через мембрану служит концентрационный градиент Na^+ и K^+ . Перенос также сопровождается изменением внутриклеточного рН и напряжения на мембране.

Транспортеры возбуждающих аминокислот различаются по стехиометрии переноса и расположению в пределах ЦНС – EAAT_1 и EAAT_2 , встречаются только в клетках глии, а EAAT_3 характерен для нейронов.

Ингибирование EAAT , например при действии дигидрокаината (ДНК), приводит к повышению концентрации глутамата и аспартата во внеклеточном пространстве, что лежит в основе цитотоксического действия возбуждающих аминокислот.

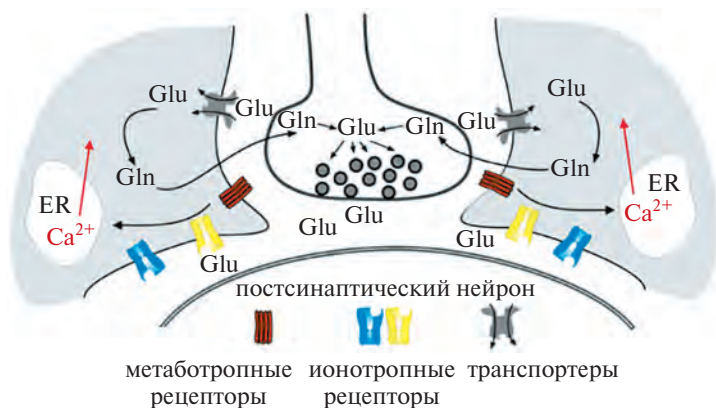


Рис. 203. «Глутамат-глутаминовый челнок» (по Chung e. a., 2015).
Glu – глутамат, Gln – глутамин, ER – эндоплазматический ретикулум

Обратный захват высвобожденного глутамата клетками глии (до 80 % от его общего количества) приводит к образованию из него глутамина под действием Mg-ATF -зависимой глутаминсинтетазы. Впоследствии может происходить высвобождение глутамина из клеток глии, его перенос в нейроны и синтез из него глутамата, катализируемого глутаминазой: «глутамат-глутаминовый челнок» (рис. 203).

Рецепторы и передача сигнала внутрь клетки

Рецепторы к ГАМК. Их активация приводит к гиперполяризации мембраны и опосредует развитие тормозных эффектов. На основании фармакологических свойств, механизма передачи сигнала и субъединичной организации выделяют два типа рецепторов к ГАМК.

1. ГАМК_A относится к ионотропным рецепторам, структурно сходны с рецепторами к АХ и глицину.

Они расположены на мембране нейронов и глии, а также клеток ганглиев автономной нервной системы и немиелинизированных волокон. Известно о существовании у млекопитающих 16 субъединиц, относящихся-

ся к семи классам ГАМК_A-рецепторов: 6α, 3β, 3γ, 1δ, 1ε, 1π, и 1σ. Кроме того, различные варианты сплайсинга РНК, например в отношении α₅, β₂, β₄ и γ₂, приводящие к возникновению изоформ, еще больше увеличивают разнообразие этих структурных компонентов. Каждая субъединица (около 50 кДа) состоит из примерно 450 аминокислотных остатков, организованных в четыре трансмембранных гидрофобных домена. Необходимо одновременное наличие пяти субъединиц трех разных типов – α, β, γ для формирования функционирующего ГАМК_A-рецептора (рис. 204).

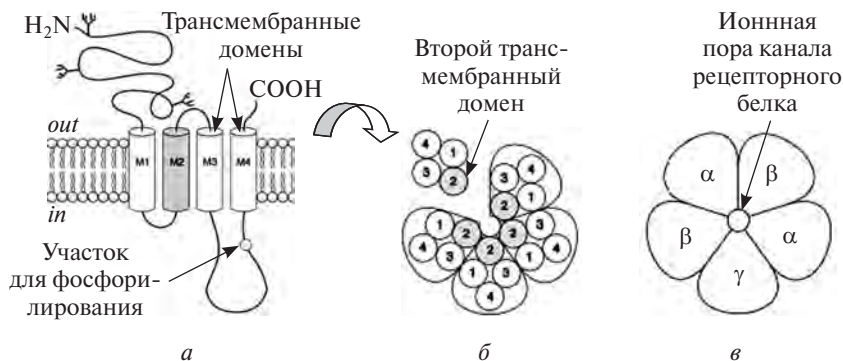


Рис. 204. Структурная организация ГАМК_A-рецептора (по Webster, 2001):
а – отдельная субъединица; б – топология трансмембранных доменов;
в – субъединичная организация рецептора

Существование только двух типов субъединиц (α и β) в составе одного рецептора характерно для искусственных систем (экспрессия в ооцитах лягушки), но не обнаруживается *in vivo*. Согласно наиболее известной модели ГАМК_A-рецептора он представляет собой пентамер, состоящий из субъединиц 2α, 2β и 1γ или 1δ (одновременное существование в одном рецепторе γ и δ субъединиц представляется маловероятным) и формирующий в мембране канал, проницаемый для Cl⁻.

Считается, что γ-субъединица взаимодействует с белками цитоскелета (гефирин), «заякоривая» рецептор в определенном участке постсинаптической мембраны. Рецепторы, содержащие δ-субъединицу, преимущественно локализованы вне области синапса.

Различия в субъединичной композиции определяют неодинаковую фармакологическую чувствительность ГАМК_A-рецепторов. Так, те из них, которые содержат α₁₋₅-субъединицы, чувствительны к действию диазепамов, а содержащие α₆-субъединицу – диазепамнечувствительны. В различных участках мозга экспрессируются различные по субъединичному составу ГАМК_A-рецепторы.

На поверхности ГАМК_A-рецептора существует три участка для связывания — один для ГАМК (ГАМК может связываться как с α -, так и β -субъединицей), другой для бензодиазепамов и третий для барбитуратов. Селективным антагонистом ГАМК_A-рецепторов является бикукуллин, а селективным агонистом, помимо собственно ГАМК, — мусцимол.

Отдельную группу представляют ГАМК_A- ρ -рецепторы. Они относятся к филогенетически наиболее древним ионотропным ГАМК-рецепторам, нечувствительным к действию бикукуллина и баклофена. Широко представлены в биполярных клетках сетчатки, а также ряде нейронов гиппокампа. Относятся к гомомерным рецепторам, состоящим из ρ -субъединиц, насчитывающих три подтипа, хотя формирование гетеромерных рецепторов с участием ρ -субъединицы также возможно при их экспрессии в ооцитах лягушки. Эти рецепторы чувствительны к действию аналога ГАМК — *цис*-аминокротоновой кислоты. Субъединицы, их составляющие, формируют хлорный канал в мембране. В качестве их селективного антагониста выступает пикротоксин, хотя участки для связывания с бензодиазепами или барбитуратами у них отсутствуют.

Изначально были известны как ГАМК_C-рецепторы, однако Международный союз фармакологии (IUPHAR) не рекомендовал их выделение в самостоятельный тип.

2. ГАМК_B представляют собой гетеродимерные метаботропные рецепторы.

Они состоят из двух субъединиц (GBR₁ и GBR₂) массой около 110 кДа, 35 %-й гомологией между друг другом, образованных в результате альтернативного сплайсинга. Одна из них (GBR₁) предназначена для связывания с ГАМК, а другая (GBR₂) — для связывания с G-белком (рис. 205).

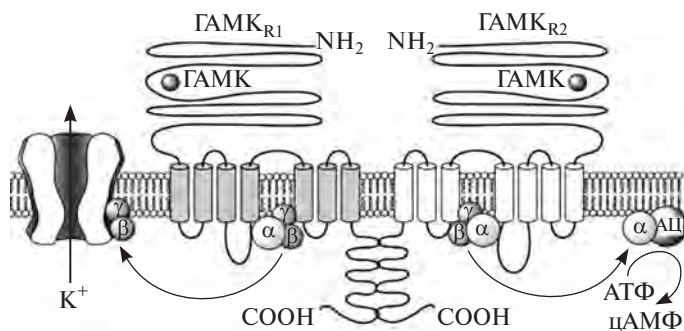


Рис. 205. Структурная организация ГАМК_B-рецептора (по Bowery & Enna, 2000).

Показано, что G-белок связан с обеими субъединицами рецептора.
АЦ — аденилатциклаза

Стимуляция ГАМК_В-рецепторов через активацию G_{o/i}-белков приводит к угнетению аденилатциклазы и снижению уровня внутриклеточного цАМФ либо к прямому действию компонентов G-белка на ионные (калиевые, кальциевые N и P/Q типов) каналы. Рецепторы ГАМК_В локализованы как на пост-, так и на пресинаптической мембранах. В первом случае они активируют калиевые каналы внутреннего выпрямления, вызывая гиперполяризацию мембраны, а во втором — подавляют активность потенциал-зависимых кальциевых каналов (типов N и P/Q), снижая выброс медиатора (ГАМК и глутамат) в синаптическую щель. Селективным антагонистом ГАМК_В-рецепторов являются производные фосфиновой кислоты — CGP 36742, CGP 54626, CGP 55845, а селективным агонистом, помимо собственно ГАМК, — баклофен.

Рецепторы к глицину. Относятся к ионотропным рецепторам, образуя наряду с ГАМК_А и АХ-рецепторами суперсемейство лигандуправляемых ионных каналов. Представляют собой гликопротеид (250 кДа), состоящий из пяти субъединиц следующего состава: 2 α 3 β . При этом α -субъединица (48 кДа) ответственна за связывание с глицином (две молекулы глицина связываются с одним рецептором), β -субъединица (58 кДа) модулирует работу рецептора, а дополнительный цитозольный полипептид (93 кДа) связан с микротрубочками цитоскелета, фиксируя рецептор в определенных местах постсинаптической мембраны (рис. 206). Методами молекулярного клонирования установлено существование четырех изоформ α -субъединицы.

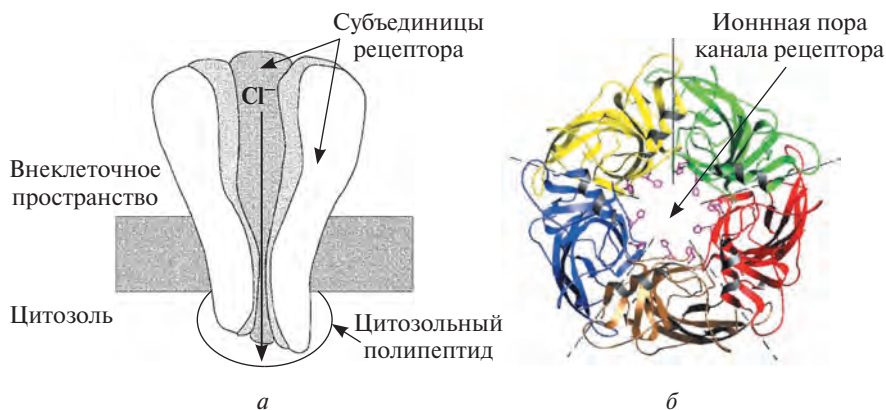


Рис. 206. Рецептор к глицину:

а — схема строения; *б* — вид со стороны синаптической щели (по Lynch, 2003)

Субъединица α_1 характерна для глицинергических рецепторов спинного мозга взрослых особей, в то время как α_2 -субъединица экспрессируется в ходе эмбрионального и неонатального развития.

Связывание глицина вызывает увеличение проницаемости мембраны для Cl^- , что приводит к гиперполяризации мембраны клетки и демонстрирует выраженную чувствительность к действию стрихнина (селективный антагонист).

Участки стрихниннезависимого связывания глицина обнаружены и на рецепторах, не чувствительных к глицину, NMDA-рецепторах (см. далее). При этом глицин увеличивает частоту открытия NMDA-рецепторных каналов.

Рецепторы к глутамату и аспартату. Представлены как ионотропными (NMDA, AMPA, каинатные), так и metabotropic рецепторами, классифицируемыми на основании фармакологических различий (способности активации специфическим агонистами, рис. 207):

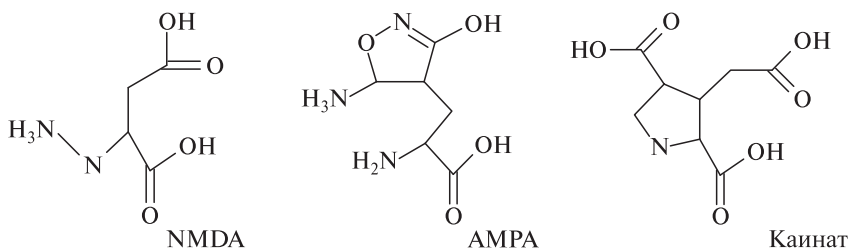


Рис. 207. Селективные агонисты рецепторов к глутамату и аспартату

1. **NMDA-рецепторы** — в качестве специфического агониста выступает N-метил-D-аспартат;

Широко представлены в клетках коры больших полушарий (слои II и III), гиппокампа, базальных ядер, обонятельной луковицы и гипоталамуса. Состоят из пяти трансмембранных белков с различными участками для связывания (агонистов, модуляторов проводимости ионного канала — Mg^{2+} и ряда неконкурентных антагонистов, различных регуляторов активности, например, глицина), образующих ионный канал, проницаемый для Na^+ , K^+ и Ca^{2+} (ионотропные рецепторы).

NMDA-рецептор состоит из четырех субъединиц (тетрамер), в каждой из которых второй трансмембранный (M2) домен ответственен за образование стенки поры ионного канала и, кроме того, формирует цитозольные участки для фосфорилирования и гликозилирования, в том числе протеинкиназой C и кальмодулин-зависимыми киназами. В покое ионный канал, образованный NMDA-рецептором, блокирован Mg^{2+} . Блокирующее внимание снимается при развитии деполяризации, и в клетку поступают положительно заряженные ионы, вызывая дальнейшую деполяризацию мембраны. Важнейшим следствием активации NMDA-рецепторов является поступление Ca^{2+} в клетку (рис. 208).

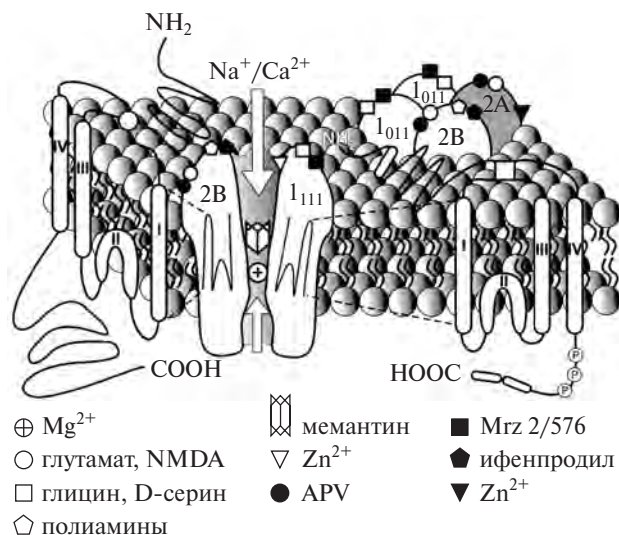


Рис. 208. Модель строения NMDA-рецептора
(по Danysz & Parson, 1998):

темные фигуры — блокаторы рецептора, светлый круг — агонисты, светлый квадрат — коагонисты, светлые пятиугольник и треугольник — модуляторы рецептора. Мемантин и Mg^{2+} являются блокаторами ионного канала рецептора

При этом в случае длительной активации NMDA-рецепторов его (Ca^{2+}) избыточное количество внутри клетки оказывается токсичным для нейронов, вызывая их гибель.

Функционирующий NMDA-рецептор представляет собой гетеротетрамерный комплекс, образованный тремя типами субъединиц:

- NR_1 , кодируемой одним геном, но благодаря различным вариантам сплайсинга образующей восемь изоформ. Формирует остов NMDA-рецептора;
- NR_2 , кодируемой четырьмя различными генами (NR_{2A-D}), образующей 5 изоформ и определяющей физиологические и фармакологические свойства NMDA-рецептора.

Еще один тип субъединиц — NR_3 , существует в двух изоформах (NR_{3A} и NR_{3B}). Они способны без участия NR_2 образовывать молекулярный ансамбль с NR_1 -субъединицами, формируя функционирующий рецепторный канал.

2. AMPA-рецепторы — в качестве специфического агониста выступает α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота (AMPA);

Многочисленны в нейронах неокортекса (слой V), миндалины, хвостатого и прилежащего ядер, молекулярного слоя мозжечка. Относятся

к ионотропным рецепторам (рис. 209), образуя трансмембранный канал, проницаемый для Na^+ , K^+ . Считается, что при некоторых условиях ионный канал может быть проницаем и для Ca^{2+} .

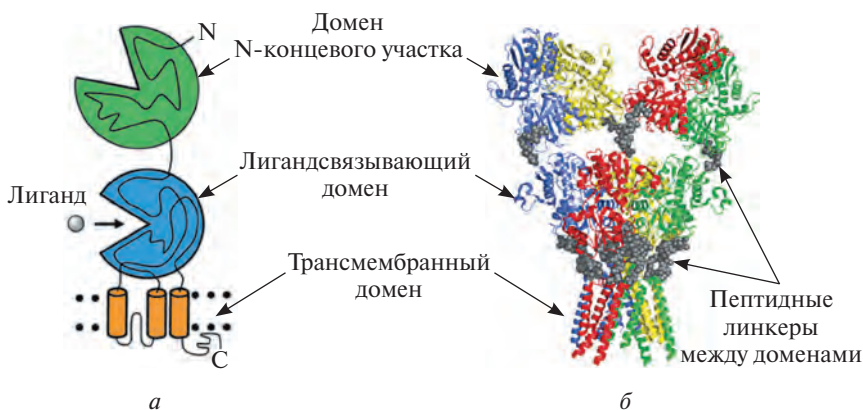


Рис. 209. Модель строения AMPA-рецептора (по Hansen *с. а.*, 2010):
а — отдельная субъединица; б — функционирующий тетрамер

Методами молекулярного клонирования установлено наличие четырех типов AMPA-рецепторов: $\text{GluR}_{1(A)}$ — $\text{GluR}_{4(D)}$, состоящих из примерно 900 аминокислот, демонстрирующих 70 %-ю гомологию друг с другом и 20–25 %-ю гомологию с NMDA-рецепторами. Для каждого типа возможен альтернативный вариант сплайсинга, приводящий к возникновению изоформ «флип» и «флоп», определяющих физиологические свойства образуемого канала. AMPA-рецепторы могут существовать как в гетеро-, так и в гомомерной конфигурации, однако в последнем случае проводимость ионного канала значительно ниже.

3. Каинатные рецепторы — в качестве специфического агониста выступает каиновая кислота.

Широко представлены в нейронах коры больших полушарий, гиппокампа, ядер ретикулярной формации промежуточного мозга. Данные рецепторы ассоциируются с формированием ионного канала, проницаемого для Na^+ , K^+ и Ca^{2+} . Представлены в гетеро- и гомомерной формах. В настоящее время выделяют два структурных класса субъединиц: GluR_{5-7} с 80 %-й гомологией в пределах группы (40 %-й гомологией с субъединицами AMPA-рецептора) и KA_{1-2} . Гомология между классами менее 50 %. Каинатные рецепторы широко представлены на мембране пресинаптических терминалей, что предполагает их участие в контроле за выделением медиатора в синаптическую щель.

4. Метаботропные глутаматные рецепторы (mGluR) — селективным агонистом служит квискулат (quisqualate).

Их стимуляция приводит к активации различных G-белков, что выражается в ингибировании аденилатциклазы ($mGluR_{2-4, 6-8}$), стимуляции фосфолипазы ($mGluR_{1,5}$) и даже в прямом действии на ионные каналы (калиевые и кальциевые). Выделяют восемь подтипов мембранотропных глутаматных рецепторов ($mGluR_{1-8}$), образованных из 854–1179 аминокислот с гомологией 40 % и организованных в три группы (1 – $mGluR_{1,5}$, 2 – $mGluR_{2,3}$, 3 – $mGluR_{4,6,7,8}$) на основании фармакологических свойств и используемого вторичного посредника. Они широко представлены среди структур мозга, располагаясь как на пост- ($mGluR_1$), так и на пресинаптической мембране ($mGluR_2$).

Аспартат может выступать в качестве активатора NMDA-рецепторов, но не такого сильного, как собственно глутамат.

Биологические эффекты аминокислотных нейромедиаторов. Глицин и ГАМК являются основными медиаторами, опосредующими торможение в ЦНС вследствие развития выраженной гиперполяризации постсинаптических клеток, обусловленной входом отрицательно заряженных ионов хлора внутрь клетки. Широко представленные на пресинаптических терминалях ГАМК_B-рецепторы выступают в качестве гетерорецепторов, контролирующих высвобождение медиатора из дофамин-, норадреналин-, серотонин- и глутаматергических нейронов. Активация ГАМК_A-рецепторов миндалины снимает состояние тревоги, а снижение их количества или блокада вызывают развитие судорожных состояний, наблюдаемых при эпилепсии. Давно известно судорожное действие блокатора глициновых рецепторов стрихнина (алкалоида *Strychnos nux vomica*) и столбнячного токсина бактерии *Clostridium tetani*, блокирующего выделение глицина из пресинаптических терминалей, реализуемых на уровне мотонейронов спинного мозга. Начиная с 1960-х гг. многие бензодиазепамы и барбитураты, т. е. вещества, способные модулировать активность ГАМК_A-рецепторов, широко используются в качестве успокаивающих препаратов. Не исключена роль ГАМК-ергической системы мозга в процессах долговременной памяти и развитии некоторых нейродегенеративных заболеваний.

Глутамат опосредует протекание как быстрых (деполяризация мембраны), так и медленных (долговременная потенциация) синаптических процессов. Он участвует в регуляции выделения гормонов гипофиза, миграции нейронов в ходе индивидуального развития. Повышенное выделение глутамата и аспартата вследствие длительной стимуляции глутаматергических путей приводит к развитию эксайтотоксических (от англ. *excitotoxicity*) эффектов, наблюдаемых при ишемии, эпилептических состояниях, нейродегенеративных заболеваниях (болезни Альцгеймера и Паркинсона). Указанные эффекты обусловлены массивным входом Ca^{2+} в клетку и достижением его токсичных концентраций, запускающих механизм клеточной гибели.

3.3. НЕЙРОМОДУЛЯТОРЫ

В этой главе представлен краткий обзор веществ, выступающих в качестве нейромодуляторов, хотя, как отмечалось в подразд. 3.1, ряд из них вполне может быть классифицирован как истинные нейромедиаторы даже с учетом той доли условности, которая характеризует выделение этих двух групп в качестве самостоятельных.

3.3.1. ПУРИНЫ И ПИРИМИДИНЫ

Внеклеточные пурины (аденозин, АДФ и АТФ) и пиримидины (УДФ и УТФ) относятся к важнейшим сигнальным молекулам (рис. 210). С уверенностью можно говорить о том, что в отношении АТФ и аденозина выполнены все условия, чтобы считать его нейромедиатором, хотя в отношении других веществ пуриновой и пуринергической природы это не столь очевидно.

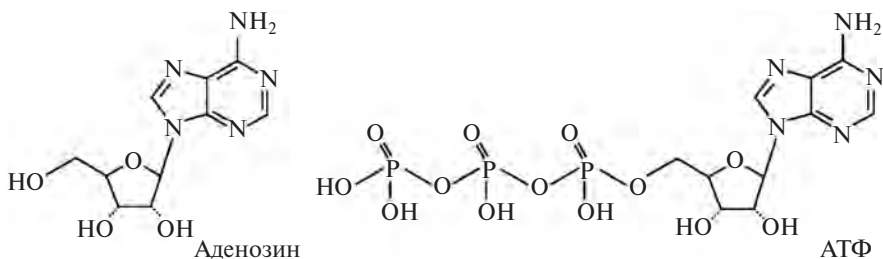


Рис. 210. Пурины

Первые указания на сигнальную функцию пуринов (аденозин и АМФ) были получены Сент-Дьёрди (Szent-Györgyi, 1929) при изучении их действия на сердечно-сосудистую систему. Однако только в начале 70-х гг. XX века, благодаря работам Г. Бернстока (G. Burnstock) было показано, что АТФ является медиатором неадренергической, нехолинергической (NANC) передачи в автономной нервной системе.

Как быстрый нейромедиатор АТФ работает в некоторых отделах головного мозга. Он также широко представлен в качестве котрансмиттера в норадренергических и холинергических синапсах. Синтезируется в ходе метаболического превращения захваченной нервными терминалями глюкозы в митохондриях посредством окислительного фосфорилирования. Большая часть используется для поддержания работы Na^+/K^+ насоса, других АТФаз, а небольшая доля АТФ попадает в синаптические пузырьки, выступая затем в качестве нейромедиатора.

Выделяемый АТФ метаболизируется посредством ферментов клеточной поверхности (экто-АТФазы). В конвертации АТФ участвуют:

- **экто-АТФаза** — гидролизует АТФ до АДФ;
- **экто-апиразы** — преобразуют АТФ и АДФ в АМФ;
- **экто-5'-нуклеотидазы** — конвертируют АМФ в аденозин.

Все промежуточные метаболиты АТФ способны активировать соответствующие рецепторы (см. далее). Внеклеточная концентрация аденозина регулируется посредством двойного механизма — двустороннего мембранного переноса и ферментативного расщепления (аденозиновые деаминаза и киназа).

В зависимости от того, какое вещество (вещества) выступает в качестве агониста, выделяют два типа пуринорецепторов.

1. **P1-рецепторы** — активируются аденозином. Относятся к метаботропным рецепторам, ассоциированным с G-белком. Состоят из 320–410 аминокислот и демонстрируют 90–95 %-ю гомологию в пределах разных групп млекопитающих. Семь трансмембранных доменов (21–28 аминокислот в каждом) соединены тремя внеклеточными и тремя внутриклеточными петлями. С-концевой участок находится в цитозоле, а Т-терминаль — во внеклеточном пространстве. На основании молекулярных, биологических и фармакологических свойств их подразделяют на следующие подтипы:

- **A₁**: связаны с G_{o/i}- или G_q-белками, реализуя свое действие благодаря снижению уровня цАМФ или активации IP₃/DAG-системы в зависимости от места нахождения. Дальнейшее их разделение основано на способности к связыванию с агонистом — высокоаффинные A_{1a} и низкоаффинные A_{1b}-рецепторы;

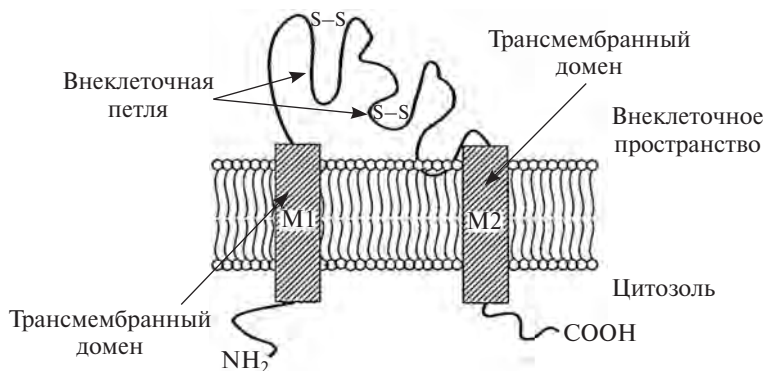
- **A₂**: связаны с G_s (A_{2A})-, G_{o/i}- и G_q (A_{2B})-белками. Также подразделяются на высокоаффинные A_{2A} и низкоаффинные A_{2B} рецепторы. Первые широко распространены в ЦНС — преимущественно в базальных ядрах, а также клетках глии, вторые представлены и в периферической нервной системе;

- **A₃**: один из самых малых рецепторов, состоящий всего из 316–320 аминокислот в зависимости от вида. Система активируемых вторичных посред-

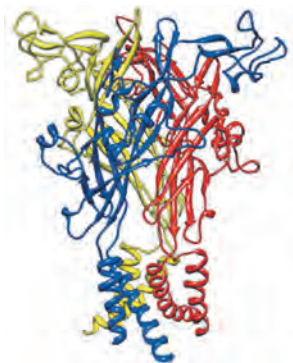
ников сходна с таковой для A_1 -рецептора. Широко распространены по всему организму, однако в нервной ткани их представительство невелико.

2. **P2-рецепторы** — активируются АТФ (АДФ), УТФ (УДФ). Дальнейшее их разделение основано на принадлежности к ионо- или метаботропным рецепторам:

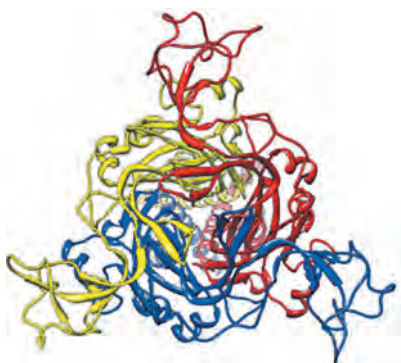
- **P2X-рецепторы (ионотропные):** образованы комбинацией нескольких субъединиц (трех, т. е. возможно их существование в форме гомо- или гетеротримеров), каждая из которых представлена двумя трансмембранными сегментами, соединенными большой внеклеточной петлей, N- и С-участки находятся в цитоплазме (рис. 211).



a



б



в

Рис. 211. Трансмембранная топология субъединицы P2X рецептора (*a*, по Ralevic & Burnstock, 1998) и структура P2X (тример) рецептора при взгляде со стороны мембраны (*б*) и внеклеточного пространства (*в*) (по Browne, 2012)

Данная группа весьма гетерогенна — выделяют семь подтипов P2X рецепторов (P2X₁₋₇), организованных в три группы. Рецепторы первой группы (P2X_{1,3}) характеризуются высоким аффинитетом к АТФ, быстро активируются и десенситизируются. Рецепторы второй группы (P2X_{1,4-6}) обладают низким аффинитетом к АТФ, относительно медленно активируются и десенситизируются. Рецепторы третьей группы (P2X₇) обладают очень низким сродством к АТФ и почти не подвержены десенситизации, они не обнаружены в нервной ткани, а локализованы на мембране тучных клеток и макрофагов.

Все P2X-рецепторы формируют неселективную ионную пору, проницаемую для $\text{Ca}^{2+} \gg \text{Na}^+ > \text{K}^+$. Быстрый (10 мс) перенос указанных ионов через мембрану вызывает деполяризацию и значительно увеличивает внутриклеточную концентрацию кальция как прямо, так и опосредованно за счет последующей активации потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов. Это особенно важно в случаях межнейронной передачи сигнала и при регуляции сокращения гладких мышц;

P2X рецепторы подвержены различным модулирующим влияниям. Так, Zn^{2+} усиливает катионную проводимость, обусловленную действием АТФ, а защелачивание, напротив, ее снижает.

• **P2Y-рецепторы (метаботропные):** несмотря на то что сообщалось о клонировании свыше десяти подобных рецепторов, не все из них, а только 8 в последующем были признаны истинными P2Y-рецепторами (P2Y_{1,2,4,6,11,12,13,14}). Они образованы гликопротеинами из 308–377 аминокислот, связанными преимущественно с G_q-белками, а также G_i-белком (P2Y₁). В отличие от других подтипов (среди которых достаточно часто встречаются рецепторы с высоким сродством к пиримидинам) P2Y₁ широко представлены в клетках головного мозга.

Несмотря на значительную роль пуринаргической системы в регуляции деятельности внутренних органов, ее участие в работе ЦНС остается предметом интенсивного изучения. Так, повышенная внеклеточная концентрация АТФ приводит к гипервозбудимости клеток и усиливает восприятие боли (в этом случае именно АТФ, поступающий из разрушенных клеток, является одним из медиаторов боли). В гиппокампе подтверждено его вовлечение в процессы памяти и обучения. В отличие от АТФ аденозин обладает преимущественно «успокаивающим» действием, снижая выброс многих нейромедиаторов (дофамин, ГАМК, глутамат, ацетилхолин, дофамин, серотонин, норадреналин) посредством активации пресинаптических A₁-рецепторов. Установлена вовлеченность пуринаргической передачи в контроль работы ряда нейронных генераторов ритма, в частности дыхательного.

3.3.2. НЕЙРОПЕПТИДЫ

Значительное число пептидов, синтезируемых в нейронах, выступает в качестве нейромодуляторов, т. е. веществ, способных существенно повлиять на характер действия «классических» сигнальных веществ (медиаторов). Крупные белковые молекулы неспособны из-за своих размеров накапливаться в синаптических пузырьках, высвобождаются из пресинаптических терминалей и взаимодействовать с рецепторами постсинаптической клетки. Поэтому часто в ходе нормального развития от них случайным образом отщепляется цепочка из не более чем 30 аминокислот, именуемая теперь нейропептидом.

Пептидные гормоны были открыты еще в начале XX века У. Бэйлисом и Э. Старлингом (Bayliss & Starling, 1902), но только по прошествии 60–70 лет идея о том, что подобные вещества могут синтезироваться и клетками мозга, а не только клетками кишечника, где они впервые были описаны, укрепилась окончательно. Этому способствовал факт установления пептидной природы гормонов гипоталамуса и гипофиза (середина 1950-х гг.), а также локализации различных нейропептидов в ЦНС посредством иммуногистохимических методов.

Согласно «нейропептидному» постулату Д. де Вида (de Wied, 1987) к нейропептидам относят вещества белковой природы, синтезируемые в нервных клетках и реализующие свое действие посредством активации рецепторов на нейронном уровне.

Основная проблема использования термина «нейропептид» в столь строгом смысле заключается в том, что многие из пептидов, будучи активными в ЦНС, вовлечены в регуляцию функций, напрямую не связанных с нервной деятельностью, — развитие и рост организма, поддержание гомеостаза, иммунный ответ и т. п.

Как уже отмечалось, нейропептиды образуются из крупных молекул предшественников, состоящих из примерно 300 аминокислот. В ходе созревания из одной молекулы предшественника могут образовываться несколько нейропептидов. В зависимости от способности представителей исходного семейства нейропептидов связываться с рецепторами постсинаптической мембраны их разделяют на две группы:

1) *нейропептиды общего происхождения*, активирующие *разные* рецепторы, — так, вещество Р взаимодействует с NK_1 -рецептором, а нейрокинины А — с рецептором NK_2 ;

2) *нейропептиды общего происхождения*, активирующие *одинаковые* рецепторы, — мет-энкефалин и лей-энкефалин взаимодействуют с одним и тем же δ -опиоидным рецептором.

Достаточно подробно охарактеризовано свыше 50 нейропептидов (табл. 8), и число их продолжает увеличиваться.

Наиболее известные нейропептиды

Семейство	Предшественник	Активный пептид
Ангиотензин	Ангиотензиноген	Ангиотензин
Соматостатин	Просоматостатин	Соматостатин
Бомбезин	Пробомбезин	Бомбезин
Производные I гена кальцитонина (CALC I)	Про-CALC I Про-CGRP I	Кальцитонин, относящийся к гену кальцитонина пептид (α -CGRP)
Производные II гена кальцитонина (CALC II)	Про-CGRP II	Относящийся к гену кальцитонина пептид (β -CGRP)
Производные гена вазопрессина	Провазопрессин	Вазопрессин, нейрофизин II
Производные гена окситоцина	Проокситоцин	Окситоцин, нейрофизин I
Производные гена меланин-концентрирующего гормона (MCH)	Про-MCH	MCH, нейропептиды Glu-Ile (NEI) и Gly-Glu (NGE)
Производные гена нейротензина	Пронейротензин	Нейротензин, нейромедин N
Производные гена препро-тахикинина A (PPTA)	PPTA	Вещество P, нейропептиды K и γ , нейрокинин A
Производные гена препро-тахикинина B (PPTB)	PPTB	Нейрокинин B (нейромедин K)
Производные гена вазоактивного интестинального пептида (VIP)	ПроVIP	VIP
Производные гена динорфина	Продинорфин	Динорфины A и B, α и β неозендорфины
Производные проопиомеланокортина (POMC)	POMC	α - и β -Меланоцитстимулирующие гормоны, АКТГ, α -, β -, γ -эндорфины, β -липопротеин
Производные гена энкефалина	Проэнкефалин	Мет- и Leu-энкефалин
Холецистокинин (ССК)	Про-ССК	ССК ₈ , ССК ₃₃ , ССК ₅₈

Особенности метаболизма. В отличие от синтеза нейромедиаторов, протекающего непосредственно в нервных окончаниях, образование нейропептидов происходит на рибосомах в теле клетки. Впоследствии молекула предшественника переносится в аппарат Гольджи, где она включается в состав крупных (100–200 нм) электронно-плотных пузырьков, транспортируемых в нервные терминалы.

В ходе этих стадий специфические эндопротеазы расщепляют белок-предшественник, а экзопептидазы устраняют концевые С-группы, преобразуя их в амидные.

Как правило, отмечается совместная локализация различных нейропептидов в одном нейроне, а также их колокализация с «классическими» нейромедиаторами.

Особую роль в переносе нейропептидов в нервные окончания играет *аксонный транспорт*. Таким образом, количество нейропептида, доступного для высвобождения и способного опосредовать тот или иной эффект, ограничено его количеством в терминалях нейрона, поскольку перенос вещества из тела клетки, где сосредоточен основной запас нейромодулятора, требует значительных временных затрат. Этому успешно противодействуют особенности постсинаптического действия нейропептидов — связывание с рецепторами при относительно низких (10^{-8} – 10^{-10} М) по сравнению с нейромедиаторами (10^{-4} – 10^{-7} М) концентрациях, замедленное удаление из синаптической щели, усиление сигнала за счет активации системы вторичных посредников. Тем не менее усиление спайковой активности может привести к истощению внутриклеточных депо пептидергических нейронов.

Кальцийзависимое выделение нейропептидов приводит к активации метаботропных рецепторов, связанных с G-белками, и обеспечивает протекание «медленных» синаптических процессов. Удаление избыточного количества нейропептида происходит путем его расщепления посредством мембранных *пептидаз* (металлопептидаз). Механизмы обратного захвата для них нехарактерны.

Насыщение мембранных пептидаз субстратом, т. е. нейропептидами, может приводить к тому, что часть неинaktivированных молекул пептидных нейромодуляторов может покидать область синапса, оказывая паракринное действие на прилежащие участки ткани. В частности, подобный механизм описан при действии вещества Р и нейрокининов в ЦНС.

Наличие в одном нейроне двух и более нейропептидов и/или нейромедиаторов создает ряд возможностей по взаимодействию их друг с другом: усиление или ослабление постсинаптического действия каждого, усиление или ослабление процессов высвобождения и захвата.

Краткая характеристика. Относительно крупные размеры большинства нейропептидов затрудняют их проникновение через гематоэнцефалический барьер, ограничивая действие указанных веществ областью головного и спинного мозга. Нестабильность пептидов во внеклеточном пространстве создает дополнительные трудности для функциональных исследований, требующих использования селективных агонистов и антагонистов небелковой природы. Задача по их поиску успешно решена лишь для некоторых нейропептидов.

1. **Тахикинины и вещество Р.** В настоящее время принято говорить о пяти представителях этого семейства (см. табл. 6) у млекопитающих, а еще три представителя (эледоизин, кассинин, фузаламин) выделены из тканей других организмов. Все они характеризуются наличием одинаковой аминокислотной последовательности на амидированном С-концевом участке: Gly-Leu-Met-NH₂:

- **нейрокинин А:** His-Lys-Thr-Asp-Ser-Phe-Val-Gly-Leu-Met,
- **нейрокинин В:** Asp-Met-His-Asp-Phe-Phe-Val-Gly-Leu-Met,
- **вещество Р:** Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met.

Вещество Р (от англ. *preparation*, препарат) было описано У. Эйлером (U. Euler) и Дж. Гаддумом (J. Gaddum) в 1931 г., но его аминокислотная последовательность была установлена только спустя сорок лет (Chang e. a., 1971). Другие представители семейства получили наименование тахикининов вследствие их способности вызывать сокращение гладкой мускулатуры, оказывая вазоактивное действие.

Выделяют три основных типа тахикининовых рецепторов: NK₁, NK₂ и NK₃, эндогенными агонистами которых выступают вещество Р (11 аминокислот), тахикинины А и В (состоят из 10 аминокислот каждый) соответственно. Все они относятся к суперсемейству рецепторов, связанных с G-белками (G_q), и их стимуляция посредством активации IP₃/DAG-системы приводит к развитию медленной деполяризации, вызываемой закрытием K⁺-каналов.

Высокая концентрация тахикининов и вещества Р обнаружена в различных отделах ЦНС: спинном мозге, хвостом и прилежащем ядрах, миндалине. Высокая концентрация вещества Р характерна для нейронов *substantia nigra*. Отмечена колокализация вещества Р и тахикининов (нейроны полосатого тела, сенсорные нейроны спинного мозга), вещества Р и ГАМК (некоторые интернейроны коры и гиппокампа).

Тахикинины и вещество Р интегрированы в нейронные сети, ответственные за восприятие болевых ощущений (ноцицепцию). Именно они выступают в качестве передатчика болевых сигналов на уровне спинного мозга (нейроны малого диаметра задних рогов), опосредуют протекание воспалительных процессов (стимулируют выделение гистамина тучными клетками). Развитие ряда нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера) ассоциируется с массовой потерей NK₁-рецепторов мозга.

2. **Опиоидные пептиды.** К данной группе относятся продукты нескольких генов — диноρφина, проопиомеланокортина и энкефалина (см. табл. 8). Все они обладают способностью взаимодействовать с рецепторами, активируемыми экзогенной аппликацией морфина (алкалоид *Papaver somniferum*, выделенный Ф. Сертурнером (F. Serturmer) еще в 1803 г.).

Открытие опиоидных пептидов приходится на середину 1970-х гг. Изначально исследования были нацелены на идентификацию в ЦНС рецепторов к морфину, и только после этого последовало открытие их эндогенных агонистов.

Первыми были открыты наиболее «короткие» представители данной группы, пентапептиды мет- и лей-энкефалины, различающиеся лишь последней аминокислотой (метионин или лейцин) карбоксильного конца. Основные производные проопиомеланокортина — **эндорфины** — характеризуются более длинной аминокислотной последовательностью:

- **мет-энкефалин:** Tyr-Gly-Gly-Phe-Met,
- **лей-энкефалин:** Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu,
- **динорфин А (1-17):** Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu-Lys-Trp-Asp-Asn-Gln,
- **β-эндорфин:** H-Tyr-Gly-Gly-Phe-Met-Thr-Ser-Glu-Lys-Ser-Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu-Phe-Lys-Asn-Ala-Ile-Lys-Asn-Ala-Tyr-Lys-Lys-Gly-Glu-OH,
- **ноцицептин:** Phe-Gly-Gly-Phe-Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln.

Так, β-эндорфин состоит из 31 аминокислоты. Производные гена динорфина могут быть короткими — α- и β-неоэндорфин (10 и 9 аминокислот), средними — динорфины А (A₁₃, A₁₇) и В (B₁₃) и длинными — динорфин В (B₂₉) пептидами. Их характерной особенностью является наличие в молекуле как минимум одной аминокислотной последовательности, идентичной таковой для лей-энкефалина (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu). Нейроны, содержащие опиоидные пептиды, широко представлены в самых различных отделах головного и спинного мозга (рис. 212). Особенно велика их концентрация в нейронах промежуточного мозга (гипоталамические ядра).

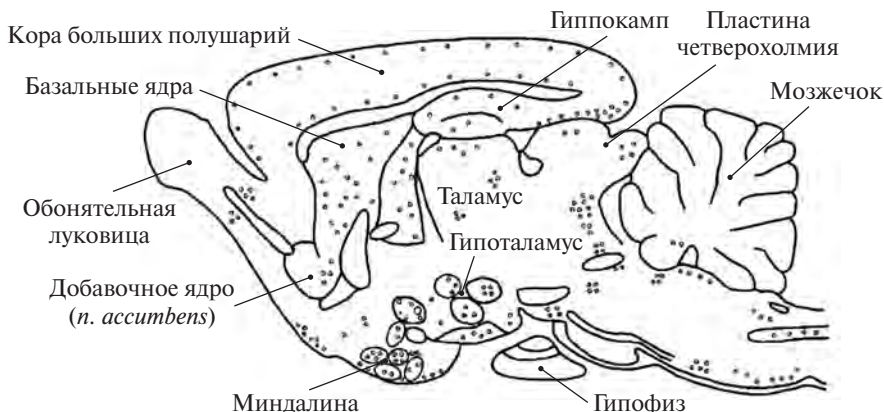


Рис. 212. Распределение клеток, экспрессирующих проэнкефалин в мозге крысы

Все опиоидные рецепторы связаны с $G_{i/o}$ -белками, а следовательно, реализуют свое действие посредством снижения активности аденилат-циклазы и уменьшения концентрации цАМФ внутри клетки. В настоящее время выделяют три основных типа опиоидных рецепторов:

- **μ -рецепторы** — основным эндогенным агонистом является β -эндорфин. Существует два подтипа: μ_1 и μ_2 . Их стимуляция приводит к активации кальцийзависимых K^+ -каналов, что уменьшает длительность потенциала действия и приводит к снижению возбудимости нейронной мембраны. На пресинаптическом уровне это вызывает снижение выброса нейромедиатора в синаптическую щель. В частности, высвобождение вещества Р чувствительными нейронами спинномозговых ганглиев блокируется при стимуляции опиоидных рецепторов, расположенных на мембране этих тахикининергических нейронов, что обуславливает анальгетический эффект опиоидных пептидов. Рецепторы данного типа широко представлены и в мозге — неокортексе, гиппокампе и базальных ядрах;

- **δ -рецепторы** — основными эндогенными агонистами являются энкефалины. Традиционно подразделяются на два подтипа — δ_1 (обеспечивают анальгетические эффекты в головном мозге) и δ_2 (ответственны за анальгетические эффекты на уровне спинного мозга). Механизм внутриклеточной трансформации внешнего сигнала для рецепторов этого подтипа сходен с таковым для μ -рецепторов;

- **κ -рецепторы** — основными эндогенными агонистами являются диорфины. Об их существовании стало известно в 1993 г. на основании экспериментов по молекулярному клонированию (была получена кДНК, ответственная за образование белка, состоящего из 380 аминокислот). Результаты фармакологического тестирования позволили выделить ряд подтипов κ -рецепторов: κ_1 (изоформы А и В), κ_2 (изоформы А и В) и κ_3 . Эти рецепторы также опосредуют анальгетические эффекты, препятствуя высвобождению медиатора боли, например АТФ, за счет инактивации потенциалзависимых Ca^{2+} -каналов пресинаптических терминалей таких нейронов.

Методы молекулярного клонирования позволили установить присутствие в ЦНС человека, крысы и мыши еще одного типа опиоидных рецепторов — человеческого опиоидподобного рецептора 1 (human Opioid Receptor-Like 1, hORL1). Его эндогенным агонистом выступает ноцицептин, а налоксон (универсальный блокатор опиоидных рецепторов) имеет относительно низкое сродство к рецептору данного типа.

Помимо контроля болевой чувствительности, опиоидная система вовлечена в реализацию дыхания, пищевого поведения, стресс-индуцированных поведенческих программ и т. д.

Действие опиоидов не ограничивается развитием тормозных процессов в ЦНС. В ряде случаев возбуждение обеспечивается непрямым образом, например в ходе *растормаживания*. В частности, угнетение работы некоторых тормозных элементов нервной системы под действием опиатов (ГАМК-ергических нейронов) приводит к синаптическому облегчению в нейронных сетях гиппокампа.

3. Галанин. Открытый в 1983 г., состоящий из 29 аминокислот галанин относится к филогенетически древним пептидам, обнаруженным уже у беспозвоночных. В больших количествах он содержится в нейронах ядер гипоталамуса и миндалины. Предшественником галанина служит препрогаланин (123–124 аминокислот), ферментативное расщепление которого приводит к образованию различных многочисленных коротких форм нейропептида. Известно о существовании трех типов рецепторов к галанину: $GAL_{(R)1}$, $GAL_{(R)2}$ и $GAL_{(R)3}$ с 40–50 %-й гомологией по отношению друг к другу. Их стимуляция приводит к активации $G_{o/i}$ ($GAL_{(R)1,3}$)- или G_q ($GAL_{(R)2}$)-белка. Галанин опосредует тормозные эффекты (уменьшение спайковой активности нейронов, высвобождение медиатора) в процессах обучения и памяти, а также при развитии болевых ощущений.

4. Нейротензин. Состоящий из 13 аминокислот нейротензин представляет собой эволюционно-консервативную молекулу, обнаруживаемую у многих «примитивных» организмов, вплоть до простейших: Glu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OH.

Он встречается исключительно в нейронах, основная масса которых сосредоточена в гипоталамусе и миндалине. В меньших количествах они представлены среди клеток таламуса, *substantia nigra*, хвостатого ядра и скорлупы, спинного мозга. Нейротензин часто локализован вместе с другими нейропептидами (энкефалины, холецистокинин) и нейромедиаторами (дофамин, норадреналин, ГАМК). Известно о существовании трех типов рецепторов к нейротензину: NT_{R1} , NT_{R2} и NT_{R3} . Первые два рецептора включают 424 и 416 аминокислот соответственно, демонстрируют 64 %-ю гомологию друг с другом и состоят из семи трансмембранных сегментов, что позволяет отнести их к рецепторам, связанным с G-белками (G_q в отношении NT_{R1}). Рецептор NT_{R3} весьма необычен для своего типа, представляя собой белок (100 кДа), образующий лишь один трансмембранный домен. Показано участие нейротензина в терморегуляции (вызывает гипотермию), пищевом поведении (уменьшает потребление пищи), опосредовании анальгетических эффектов, во взаимодействии с дофаминергическими нигростриатальной и мезолимбической системами головного мозга. На периферии он расширяет кровеносные сосуды, вызывая падение артериального давления, повышает уровень сахара в крови (гипергликемия).

5. Нейропептид Y. Этот пептид, состоящий из 36 аминокислот, был изолирован в начале 80-х гг. XX в. (Tatemoto e. a., 1981).

Аминокислота тирозин, принятое однобуквенное сокращение которой Y, является терминальной как на N-, так и на C-участке данного пептида, что и дало повод ее так назвать.

Распределение нейронов, содержащих нейропептид Y в мозге, сильно не отличается от упомянутого ранее — концентрация в области гипоталамических ядер, миндалина и гиппокампа при полном отсутствии в мозжечке и лишь следовые количества в нижних отделах ствола мозга. Все типы рецепторов (Y₁, Y₂, Y₄, Y₅, Y₆) относятся к метаботропным рецепторам, стимуляция которых вызывает угнетение продукции цАМФ или возрастание внутриклеточной концентрации Ca²⁺, т. е. они связаны с G_{o/i}-и/или G_q-белком (существование Y₃-рецептора не было подтверждено). Несмотря на примерно одинаковое количество аминокислот, образующих эти типы рецепторов (380 для Y₁, 381 для Y₂), процент гомологии не очень высок — 31 % для приведенного примера. Нейропептид Y относится к наиболее распространенным нейропептидам в ЦНС. Он участвует в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы, потребления пищи и пищеварения, в контроле циркадных ритмов, регулирует высвобождение половых гормонов, что лишний раз подчеркивает его древнее эволюционное происхождение. Кроме того, известно об участии нейропептида Y в механизмах обучения и памяти, формировании тревожных состояний.

3.3.3. ПРОИЗВОДНЫЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ

К данной группе относятся **эйкозаноиды**, образующиеся из ненасыщенных C₂₀ жирных кислот, содержащих от трех до пяти двойных связей. Основным источником эйкозаноидов выступает незаменимая арахидоновая (полностью *цис*-5, 8, 11, 14-эйкозатетраеновая) кислота, синтезируемая практически во всех клетках организма.

Эйкозаноиды разделяются на две основные группы:

- 1) простагоиды — включают в себя простагландины, простациклины и тромбоксаны;
- 2) лейкотриены.

Особой группой эйкозаноидов является **анандамид**, связывающийся со специфическими (каннабиноидными) рецепторами мозга.

Эйкозаноиды. Первым шагом к синтезу эйкозаноидов является высвобождение арахидоновой кислоты из фосфолипидов под действием цитозольной *фосфолипазы* A₂. Она может быть активирована специфическим белком, а также вследствие стимуляции некоторых видов рецепторов (NMDA или 5-HT₂). В дальнейшем из нее под действием *циклооксигеназы* образуются простагландины (PG_{A-E}) и тромбоксаны, а под действием *липоксигеназы* — лейкотриены (рис. 213).

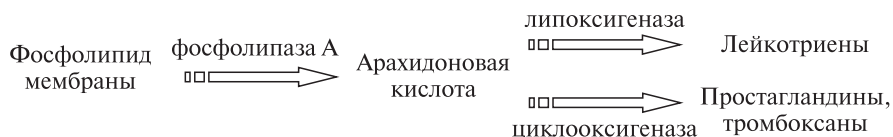


Рис. 213. Превращения арахидоновой кислоты

Сама по себе арахидоновая кислота способна воздействовать на протеинкиназу C, а также напрямую изменять проводимость Ca^{2+} - и K^{+} -каналов. Известно о существовании рецепторов к простагландинам (PGD_2 и PGE_2) в периферической и центральной (практически во всех отделах мозга) нервной системе. Роль тромбосанов и лейкотриенов в ЦНС пока изучена слабо. Существует четыре изоформы PGE_2 рецептора: EP_1 , EP_2 , EP_3 и EP_4 , связанных с G_s - или G_i -белками.

Некоторые продукты липоксигеназного пути способны напрямую взаимодействовать с белком K^{+} -каналов, увеличивая вероятность их нахождения в открытом состоянии, как это показано для нейронов *Aplysia*.

Эйкозаноиды вовлечены в регуляцию процессов воспаления, боли, лихорадки, кровяного давления. На клеточном уровне они способны модулировать работу лигандуправляемых ионных каналов, ингибировать активность $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -АТФазы и систем обратного захвата нейромедиаторов (арахидоновая кислота). Предполагается, что в механизмах долговременной потенциации в нейронах гиппокампа задействована арахидоновая кислота, высвобождение которой происходит при стимуляции NMDA-рецепторов.

• **Анандамид.** Это эндогенное вещество было обнаружено в мозге (Mechoulam *et al.*, 1992). Оно способно активировать каннабиноидные рецепторы в очень низких концентрациях.

В основе давно известного психотропного действия *Cannabis sativa* (каннабиноидов) лежит активация специфических эндогенных рецепторов мозга Δ^9 -тетрагидроканнабиолом, изолированным из *Cannabis sativa* еще в 1964 г.

Впервые возможность биосинтеза анандамиды была показана для культивируемых в искусственных условиях нейронов мозга крыс. Синтез анандамиды наблюдается при деполяризации клетки и демонстрирует сильную Ca^{2+} -зависимость. Он образуется из N-арахидонил-фосфатидилэтаноламина под действием фосфолипазы D (рис. 214).

Деполяризация нейронов приводит к выбросу анандамиды во внеклеточное пространство, а его избыток может быть удален при помощи неидентифицированного транспортера по механизму обратного захвата. Затем анандамид превращается в 12- или 15-гидропероксианандамид (липоксигеназу) или в арахидоновую кислоту (гидролазу).

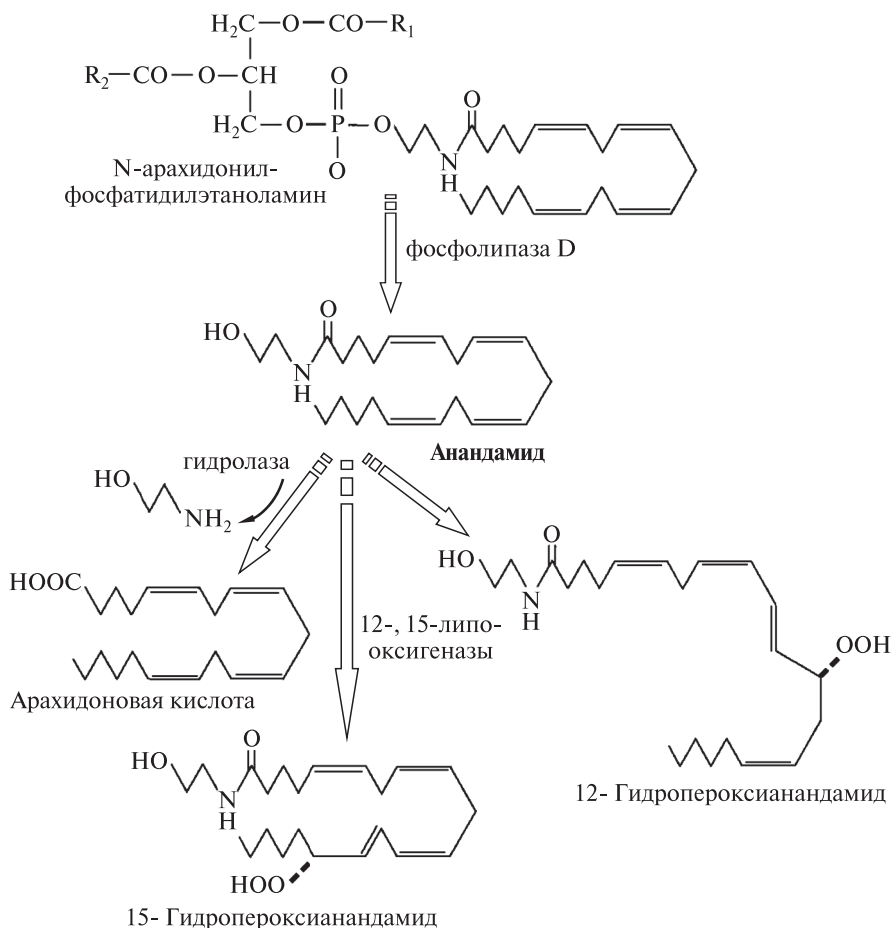


Рис. 214. Метаболизм анандамида

Существует два типа *рецепторов к каннабиноидам*: **CB₁** и **CB₂**, различия между которыми основаны на фармакологических свойствах. Аминокислотная гомология составляет 44 %. Оба они связаны с G_{o/i}-белками, и их стимуляция приводит к угнетению продукции цАМФ и мобилизации арахидоновой кислоты, что увеличивает внутриклеточную продукцию эйкозаноидов.

Рецепторы CB₁ обнаружены в коре больших полушарий, обонятельной луковице, гиппокампе, базальных ядрах и мозжечке (рис. 215), их стимуляция приводит к дезактивации кальциевых каналов N-типа.

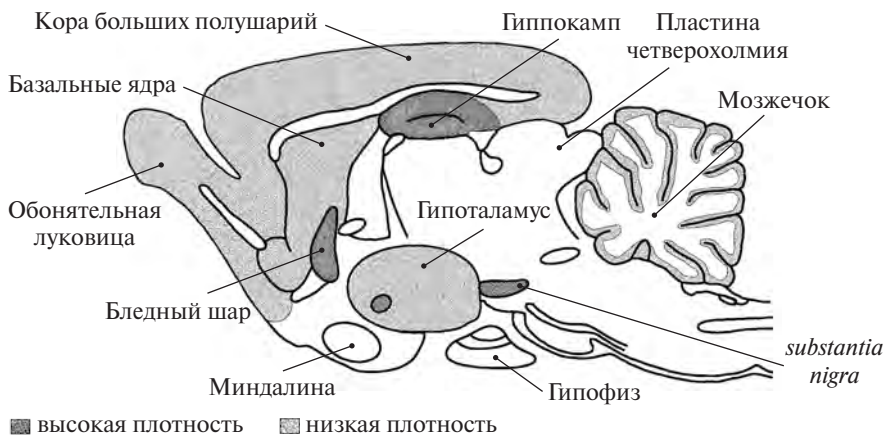


Рис. 215. Распределение СВ₁-рецепторов в мозге крысы

Рецепторы СВ₂ характерны для периферических тканей (макрофаги и тучные клетки) и не обнаружены в ЦНС. Каннабиноиды вовлечены в регуляцию болевой чувствительности (антиноцицептивное действие), развитие гипотермии, угнетение спонтанной локомоторной активности.

3.3.4. ГАЗООБРАЗНЫЕ НЕЙРОМОДУЛЯТОРЫ

Это своеобразная группа, которую отличает целый ряд особенностей, включая мелкие размеры молекулы газа и высокую мембранную проницаемость. Она включает ряд веществ, претендующих на роль нейромодуляторов.

1. **Монооксид азота (NO)** — первое газообразное вещество, для которого было показано участие в процессах межклеточной коммуникации. Поскольку монооксид азота — это газ, который легко растворяется как в воде, так и в жирах, он не может накапливаться и храниться в синаптических пузырьках. Косвенным следствием этого является тот факт, что NO не высвобождается посредством Ca^{2+} -зависимого экзоцитоза везикул, а просто диффундирует из цитозоля, где он синтезируется, во внеклеточное пространство. При этом выделение газа не привязано к какой-либо части нервной клетки.

В качестве паракринного передатчика сигнала монооксид азота впервые был охарактеризован в 1980 г. Р. Фернчгот и Дж. Завадский (Furchgott & Zawadski, 1980) впервые показали, что так называемый эндотелиальный фактор, расслабляющий сосуды (endothelium-derived relaxing factor, EDRF), есть NO. Взаимо-

действие ацетилхолина (АХ) с поверхностными рецепторами клеток эндотелия приводит к синтезу в них монооксида азота, диффундирующего к прилежащим гладкомышечным клеткам стенки сосуда, вызывая их расслабление, т. е. расширение кровеносного сосуда. Представления о роли NO как нейромодулятора сформировались только в конце 80-х гг. XX века (Garthwaite e. a., 1989), когда были получены доказательства его действия в нервной ткани.

Локализация NO-ергических нейронов в ЦНС. Существует целый ряд трудностей, наличие которых в течение длительного времени осложняло картирование NO-продуцирующих нейронов. Прежде всего, NO не хранится в синаптических пузырьках, он синтезируется «по мере надобности» в ответ на поступающие извне сигналы, его концентрация крайне мала, время жизни также невелико, что затрудняет уже прямое детектирование *in vivo*. В большинстве случаев в качестве маркера возможной продукции NO клетками выступает NADPH-диафораза, один из кофакторов синтеза монооксида азота. Клонирование нейронной формы *NO-синтазы* (фермента, ответственного за выработку NO) позволило получить специфичные антитела к ней, а также использовать методику гибридизации РНК *in situ* (в ЦНС удастся выявить все три формы NO-синтазы). Кроме того, эффективным способом картирования NO-ергических нейронов является использование флуоресцентных красителей, способных специфически связываться с молекулой монооксида азота.

Нитергические клетки широко представлены среди нейронов обонятельной луковицы, гипоталамуса (супраоптическое ядро), а также в составе коры больших полушарий, гиппокампа, базальных ядер (хвостатое ядро и скорлупа), пластины четверохолмия среднего мозга, мозжечка и ядер ствола (рис. 216).

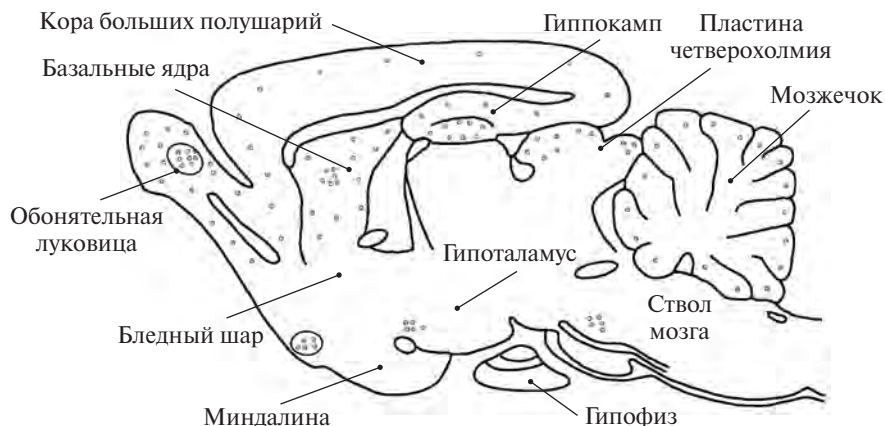


Рис. 216. Распределение нейронов с NO-синтазной активностью в мозге крысы

Имеются свидетельства о продукции NO клетками глии, а также его колокализации с ГАМК и нейропептидом Y.

Метаболизм NO. Монооксид азота образуется в результате двустадийного окисления гуанидинового атома азота в молекуле незаменимой аминокислоты L-аргинина. Промежуточным продуктом реакции является N-ω-гидрокси-L-аргинин, распадающийся с образованием одной молекулы цитруллина и монооксида азота (рис. 217). Продукция NO в мозге не особенно интенсивна — пмоль/мин/мг общего белка.

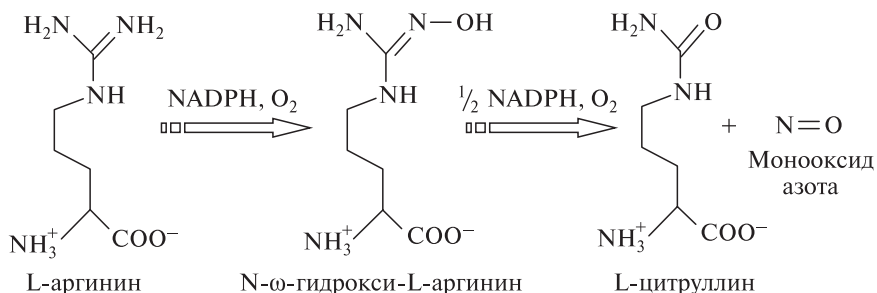


Рис. 217. Биосинтез монооксида азота

Протекание реакции синтеза обеспечивает фермент *NO-синтаза* (NOS). Существует три основные изоформы данного фермента:

- *нейронная* (nNOS);
- *эндотелиальная* (eNOS);
- *индуцибельная* (iNOS).

Активность первых двух форм регулируется внутриклеточными ионами кальция. При повышении их концентрации происходит образование комплекса кальция с кальмодулином, который, взаимодействуя с NO-синтазой, переводит ее в активное состояние. Для нормального протекания реакции требуется также ряд кофакторов — NADPH и кислород. Снижение уровня кальция в клетке приводит к терминции синтеза монооксида азота в нейронах и эндотелии.

Индукцибельная форма NOS встречается в клетках периферической крови, выполняющих защитную функцию (макрофаги). Благодаря своим свободнорадикальным свойствам NO в данном случае выступает в роли цитотоксического агента. Интересно, но у бактерий имеется собственная форма NO-синтазы — бактериальная (bNOS), защищающая их от окислительного стресса.

В мозге повышение внутриклеточной концентрации кальция происходит вследствие предварительной активации NMDA-рецепторов. Напротив, в клетках эндотелия реализуется механизм, связанный со стимуляцией

фосфолипазы С и активацией IP_3 /DAG-пути. Выделяемый клеткой NO связывается со своими мишенями, а его избыток быстро инактивируется при взаимодействии с кислородом или супероксиданионом — время жизни свободного NO исчисляется несколькими секундами. Монооксид азота способен образовывать комплексы с белками крови, в частности с гемоглобином, и это еще один путь его инактивации. Заметим, что для газообразных нейромодуляторов не существует специальной системы обратного захвата или распада.

При взаимодействии NO и супероксиданиона может образовываться пероксинитрит — крайне реакционное соединение, способное индуцировать свободнорадикальные реакции и обладающее выраженными нейротоксическими свойствами.

Механизм внутриклеточной передачи сигнала. Монооксид азота легко проникает через мембраны любых клеток. Таким образом, он не связывается ни с какими рецепторами на поверхности клетки, а взаимодействует непосредственно с внутриклеточными белками. Основной мишенью действия NO в клетке является растворимая гуанилатциклаза, катализирующая образование цГМФ из ГГФ. Связывание монооксида азота с гемом гуанилатциклазы приводит к изменению конформации последней, что и лежит в основе ее активации. Образующийся цГМФ, в свою очередь, стимулирует цГМФ-зависимую протеинкиназу, способную фосфорилировать многочисленные белки, в том числе белки ионных каналов.

В частности, в клетках гладких мышц фосфорилирование посредством цГМФ-зависимой протеинкиназы модулирует активность K^+ - и Ca^{2+} -каналов, а также кальциевых насосов, что приводит к уменьшению внутриклеточной концентрации кальция и опосредует расслабление мышцы.

Активность многих гемсодержащих ферментов, например циклооксигеназы I и II, липооксигеназы, модулируется при их взаимодействии с NO. Кроме того, регулирующим влиянием со стороны монооксида азота подвержены ферменты, содержащие Fe—S-кластеры: *цис*-аконитаза, комплексы I и II электрон-транспортной цепи митохондрий. Монооксид азота также способен нитрировать и/или нитрозилировать тиоловые компоненты белков, в том числе из состава различных внутриклеточных протеинов (аденилатциклаза, протеинкиназа С, белки SNAP) и рецепторов (NMDA-рецепторы).

Биологические эффекты монооксида азота. Благодаря своим особенностям NO является активным участником несинаптических взаимодействий, опосредуя передачу сигнала на большие по сравнению с шириной синаптической щели расстояния.

В пределах ЦНС монооксид азота участвует в регуляции мозгового кровообращения, высвобождении нейромедиаторов и нейромодулято-

ров, процессах нейрогенеза и синаптической пластичности. Особенно стоит отметить роль NO в развитии долговременной потенциации (ДВП) в нейронах коры больших полушарий и гиппокампа, а также долговременной депрессии (ДВД) в нейронах мозжечка. При этом монооксид азота выступает в роли *ретроградного передатчика сигнала* — выделяясь из постсинаптической клетки, он диффундирует по межклеточному пространству, в том числе и к пресинаптической терминали, поддерживая ДВП (ДВД) за счет влияния на процессы высвобождения нейромедиатора (см. также подразд. 4.3).

Помимо NO-зависимой формы ДВП существуют некоторые долговременные изменения синаптической передачи, которые не подвержены регуляторному влиянию монооксида азота (NO-независимая ДВП).

Известно и о нейропротекторных свойствах NO — нейроны, содержащие NO-синтазу, устойчивее к нейротоксическому действию глутамата.

С другой стороны, гиперпродукция NO, например при развитии кислородного голодания (ишемии) мозга, может вызывать повреждение расположенных рядом с источником его синтеза клеток.

Роль других эндогенных газообразных веществ в регуляции процессов межклеточной коммуникации менее значима, нежели NO.

2. Монооксид углерода (CO). Образование CO катализируется гем-оксидазой (HO), активирующейся при фосфорилировании протеинкиназой C. При этом монооксид углерода является побочным продуктом реакции распада гема до биливердина. Известно о существовании двух изоформ гем-оксидазы:

- *эндотелиальной* (HO₁): индуцибельный фермент, ответственный за распад гема. Его экспрессия возрастает в ответ на аккумуляцию гема и при действии окислительного стресса;

- *нейронной* (HO₂): конститутивный фермент, встречается в мозге.

Как и NO, монооксид углерода легко проникает через клеточные мембраны, связывается с железом гема в гуанилатциклазе, активируя ее и стимулируя продукцию цГМФ. Считается, что распределение HO₂ примерно соответствует таковому для NO-синтазы с максимальным присутствием в нейронах гиппокампа (пирамидные и гранулярные клетки). Кроме того, она присутствует в первичных сенсорных нейронах обонятельного эпителия.

Многие одоранты реализуют свое действие посредством CO-зависимого повышения уровня цГМФ.

Монооксид углерода выступает в качестве ретроградного передатчика при развитии ДВП. Он также модулирует работу глутаматергических систем мозга, участвует в регуляции хемосенсоров каротидных телец, вызывает вазодилатацию.

3. Сульфид водорода (H_2S). Эндогенный H_2S образуется из аминокислоты цистеина под действием пиридоксаль-5'-фосфатзависимых ферментов: *цистатион β -синтазы (CBS)* *цистатион γ -лиазы (CSE)*.

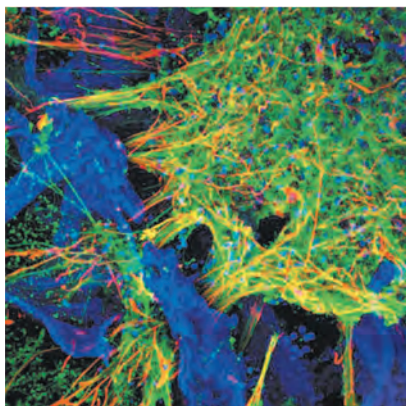
В настоящее время нельзя с уверенностью сказать, в какой форме сульфид водорода активен в тканях: H_2S , HS^- или S^{2-} . Поэтому термин «сульфид водорода» одинаково применим ко всем им. В физиологических растворах одна треть сульфида водорода существует в недиссоциированной форме (H_2S), а другие две трети приходятся на долю HS^- .

Относительно высокая по сравнению с клетками коры больших полушарий и ствола мозга экспрессия CBS наблюдается в нейронах гиппокампа и мозжечка. В то же время лишь ничтожные количества мРНК, кодирующей CSE (сам ген локализован у человека в 21 хромосоме), детектируются в клетках головного и спинного мозга, а сам фермент даже не обнаруживается при Northern-блот анализе.

Поступление цистеина в клетку опосредовано функционированием глутамат/цистеинового транспортера. Высокие внеклеточные концентрации глутамата блокируют его работу, а следовательно, снижают продукцию клеткой сульфида водорода. В норме продукция H_2S в гомогенатах мозга составляет около 20 нмоль/мин/G-белок. В результате эндогенная концентрация H_2S в мозге достигает уровня в 50–160 мкМ. В отличие от NO и CO сульфид водорода не увеличивает уровень цГМФ, а напрямую взаимодействует с участками белков, содержащих дисульфидные связи, в частности в NMDA-рецепторах, или свободные тиоловые группы.

Известно, что высокие концентрации H_2S (>320 мкМ) угнетают синаптическую передачу в гиппокампе. В то же время в физиологических концентрациях дисульфид водорода облегчает ДВП в гиппокампальных нейронах за счет усиления ответов, опосредованных активацией NMDA-рецепторов.

НЕЙРОННЫЕ СЕТИ МОЗГА



4.1. КЛЕТОЧНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ НЕРВНЫХ ЦЕНТРОВ

Несмотря на чрезвычайную сложность нейронной организации мозга подавляющего большинства многоклеточных животных, не говоря уже о комплексном мозге высших позвоночных и беспозвоночных, все разнообразие нейронных сетей можно свести к двум базовым схемам.

1. **Иерархические системы** — в случае центральной нервной системы млекопитающих к ним относятся многочисленные проводящие пути спинного и головного мозга, контролирующие двигательную активность и чувствительность и состоящие из последовательно соединенных при помощи толстых миелинизированных волокон различных клеток. Важной особенностью этой схемы является то, что повреждения, нанесенные на любом ее уровне, вызывают нарушение работы всей системы.

Иерархические системы состоят из клеток двух типов. *Проекционные* (ре-лейные) нейроны, связанные посредством химического синапса, передают сигналы на большие расстояния в пределах организма. Для них характерны крупные тела с многочисленными отростками вокруг (дендриты) и одним длинным отростком (аксон) для контакта с другими составляющими системы. Как правило, синапсы, образованные этими клетками, относятся к возбуждающим, использующим глутамат в качестве нейромедиатора синапсам. *Вставочные* (местные) нейроны участвуют в образовании многочисленных синапсов с проекционными нейронами или друг с другом. Тела этих клеток значительно мельче, аксоны мало выражены. Разнообразие синапсов (аксо-соматические, аксо-дендритные, аксо-сомальные и т. п.) позволяет реализовать различные виды межнейронных взаимодействий, прежде всего торможение — прямое, возвратное, латеральное и др. Таким образом, большинство синапсов, образованных вставочными нейронами, — тормозные, предпочтительно использующие ГАМК и/или глицин в качестве нейромедиатора.

Несмотря на разнообразие синаптических связей, в подсистеме вставочных нейронов используется ограниченное количество нейромедиаторов. В результате, фармакологически воздействуя на них, можно существенно изменить общую возбудимость нервной системы, что и наблюдается, например, при действии стрихнина.

2. **Диффузные** (неспецифические) **системы** — у млекопитающих к ним относятся нейронные сети ретикулярной формации мозга, когда тела клеток входят в состав относительно немногочисленных (в мозге человека насчитывается около 40 ядер) компактных скоплений. Диффузные системы не могут и не являются передатчиками специфической топографической информации, а опосредуют генерализованные восходящие тонические влияния (возбуждающие и тормозные), направленные на регуляцию активности коры больших полушарий, вовлечены в регуляцию процессов сна и пробуждения, эмоциональных состояний.

Отростки нейронов ретикулярной формации тонкие, немиелинизированные, часто ветвятся и меняют направление, следуя как в восходящем, так и в нисходящем направлении. На нейронах ретикулярной формации конвергируют различные афферентные сигналы, в то же время ветви одного нейрона могут иннервировать несколько функционально различных частей ЦНС. В качестве нейромедиаторов диффузные системы используют различные моноамины — норадреналин, серотонин и, главное, дофамин, а отростки продуцирующие их нейронов формируют многочисленные варикозы (аксоны *en passant*), содержащие большое количество синаптических пузырьков, обеспечивая диффузное выделение нейромедиатора. Важным следствием подобной организации является то, что клеточные мишени действия медиатора определяются местоположением рецепторов к нему, а не источника его секреции.

4.1.1. РЕФЛЕКТОРНАЯ ДУГА

Основная теория, на которой базируется современная нейрофизиология, утверждает, что деятельность нервной системы носит рефлекторный характер. На первый взгляд, рефлекс представляет собой крайне простое явление — это реакция организма, осуществляемая нервной системой в ответ на внешнее либо внутреннее воздействие. В осуществлении рефлекса участвует совокупность клеточных элементов, формирующих **рефлекторную дугу**. Традиционно ее нервными составляющими выступают афферентные (чувствительные, или сенсорные), вставочные (промежуточные, ассоциативные, или интернейроны) и эфферентные (двигательные) нейроны. Другими словами, существует последовательная цепь связанных клеточных элементов, обеспечивающая ответ организма на действие раздражителей (рис. 218).

Поразительно, но изображение рефлекторной дуги на рис. 218 (или ему подобное) лишь частично отражает ее реальную нейронную организацию, несмотря на то, что сопровождает практически любое учебное руководство по анатомии или физиологии фактически уже на протяжении более ста лет. Это скорее схема, дающая общее представление о связях между функционально различными типами нейронов.

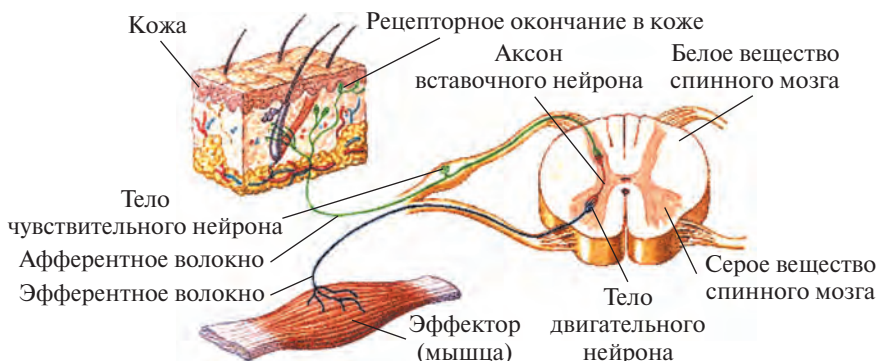


Рис. 218. Рефлекторная дуга, замыкающаяся на уровне спинного мозга

Тем не менее подобные рассуждения могут быть применимы лишь на начальном этапе рассмотрения особенностей функционирования нервной системы. Исследование клеточного строения различных рефлекторных дуг позволило сделать ряд важных выводов, напрямую затрагивающих проблему организации нейронных сетей мозга. Одной из ключевых работ в этом направлении были исследования Дж. Паркера, проведенные в начале XX века и посвященные анализу строения дуги рефлекса у гидроидных полипов (рис. 219).

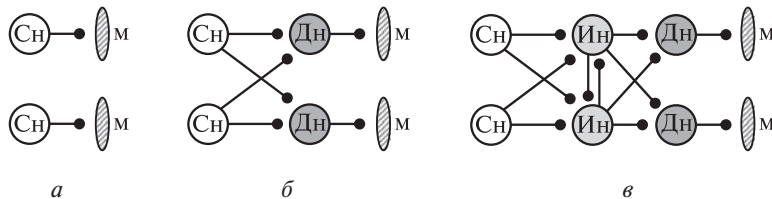


Рис. 219. Варианты связей нейронов в рефлекторной дуге (схема) (по Сидорову, 2011):
 а — при наличии только сенсорных нейронов; б — при наличии двигательных нейронов; в — при наличии вставочных нейронов.
 Сн, Ин, Дн — сенсорные, вставочные и двигательные нейроны;
 м — мышца; расширенное окончание линий — синапс

Оказалось, что в самом простом случае «рефлекторная дуга» представлена одним нейроном (сочетающим в себе одновременно свойства чувствительной и двигательной клетки), соединенным с мышцей. Предсказуемость поведения такой системы равна 100 %, и ее часто сравнивают с дверным звонком: нажатие на кнопку всегда приводит к срабатыванию звукового сигнала. Появление в составе рефлекторных дуг двигательных, а тем более вставочных нейронов, способных образовывать разнообразные

как возбуждающие, так и тормозные связи друг с другом, сводят вероятность предугадывания итоговой реакции организма почти к нулю, а следовательно, существенно повышают шансы особи на выживание.

Естественно, что повышение числа вставочных нейронов, организованных в сложные клеточные сети, представляет собой магистральный путь эволюции нервной системы. Так, в ряде участков мозга позвоночных, хорошо изученных в клеточном отношении, — мозжечке стволе мозга, зрительной зоне коры больших полушарий, гиппокампе — при наличии немногочисленных сенсорных входов и моторных выходов доминирование интернейронных сетей не вызывает сомнений.

Даже для простых сухожильных рефлексов, относящихся к моносинаптическим, как, например, в случае коленного рефлекса, их полное нейронное описание (рис. 220) включает в себя, помимо афферентного и эфферентного нейронов поясничного сегмента спинного мозга, и расположенные сегментом ниже вставочные нейроны (клетки Реншоу), осуществляющие торможение двигательного нейрона мышцы-антагониста основного эффектора (в нашем примере это двуглавая с полусухожильной и четырехглавая мышца бедра).

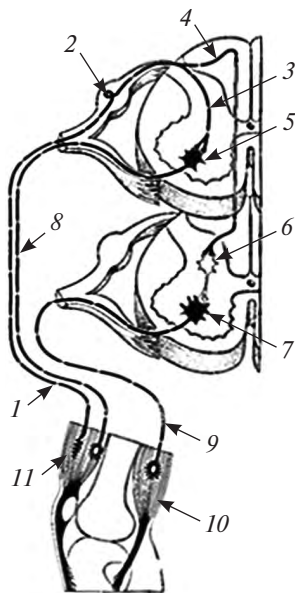


Рис. 220. Схема нейронной организации коленного рефлекса (по Шаде Форду, 1976):

1 — чувствительное волокно (от мышечного рецептора растяжения); 2 — чувствительный нейрон (спинномозговой узел); 3 — терминаль чувствительного нейрона (к двигательному нейрону того же сегмента спинного мозга); 4 — терминаль чувствительного нейрона (к вставочному нейрону, расположенному сегментом ниже); 5 — двигательный нейрон передних рогов (четыреглавая мышца); 6 — тормозный интернейрон задних рогов (клетка Реншоу); 7 — двигательный нейрон передних рогов (двуглавая мышца); 8 — двигательное волокно (к четырехглавой мышце); 9 — двигательное волокно (к двуглавой мышце); 10 — двуглавая мышца бедра, 11 — четырехглавая мышца бедра.

Восходящие и нисходящие связи с головным мозгом не указаны

В свете сказанного нет ничего удивительного в том, что интернейроны доминируют в составе нервной системы любого животного. У человека на их долю приходится 99,98 % всех клеток мозга, в то время как общее

количество мотонейронов составляет всего 2–3 млн. По приблизительным подсчетам, на каждой двигательной клетке конвергирует до 10 тыс. синаптических окончаний, а общее число синапсов в ЦНС человека может составить 1000 млрд (!), принимая во внимание ее организацию в среднем из 85 млрд клеток.

4.1.2. ЦЕНТРАЛЬНЫЕ ГЕНЕРАТОРЫ РИТМА

Совершенно иной способ организации нервных клеток по сравнению с рефлекторной дугой представляют собой центральные генераторы ритмической активности, или **центральные генераторы ритма** (ЦГР). Впервые концепция ЦГР была предложена Т. Броуном (Т. Brown) в качестве альтернативы господствовавшей в начале XX века модели рефлекторной цепи, выдвинутой Ч. Шеррингтоном для объяснения периодической двигательной активности. Принципиальные различия между двумя парадигмами отражены на рис. 221.

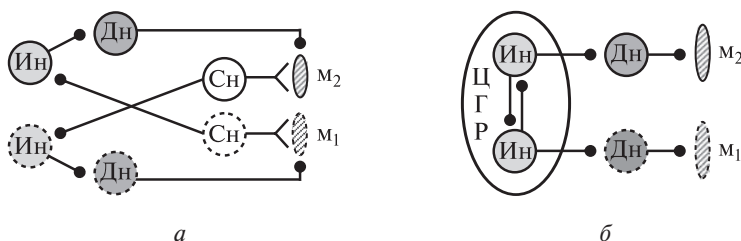


Рис. 221. Базовые способы организации нервного центра для обеспечения ритмической активности:
а – цепь рефлексов; б – центральный генератор ритма

В случае цепи рефлексов активность сенсорных нейронов, иннервирующих мышцу (либо ее сухожилие), приводит к возбуждению интернейронов и связанных с ними мотонейронов, иннервирующих мышцу-антагонист. В противоположность этому в случае ЦГР периодическая работа, т. е. сокращение и расслабление мышц-антагонистов, управляется центральными интернейронами, тормозящими друг друга.

Ключевое различие между двумя предложенными моделями очевидно даже при беглом знакомстве с приведенными схемами. Это отсутствие необходимости в сенсорных и/или внешних по отношению к нейронной сети входов для работы ЦГР. Из сказанного очевидно, что для доказательства наличия центрального осциллятора необходимо полностью заблокировать все сенсорные входы в ЦНС. Впервые это удалось только в начале 60-х гг.

XX века, когда была показана центральная природа ритмического движения крыльев при полете у саранчи (D. Wilson, 1961).

Наиболее значимым доказательством того, что какому-либо участку ЦНС изначально присуща способность к генерации ритмических моторных программ, является сохранение периодической электрической активности *in vitro*, т. е. в отсутствие не только сенсорных входов с периферии, но и согласованной по времени информации извне. Сохранение такого *фиктивного двигательного паттерна* показано для целого ряда препаратов нервной системы как у позвоночных, так и беспозвоночных животных. В настоящее время, помимо классических электрофизиологических методов, для идентификации структур ЦГР широко применяют молекулярные и генетические подходы (FRET и др.). Для доказательства вовлеченности интернейрона в состав ЦГР необходимо продемонстрировать, что его активность совпадает по времени с наблюдаемым ритмом и что изменение работы данной клетки отражается на характеристиках ритма (требуется для различия интернейронов ЦГР от связанных с ними мотонейронов).

Для характеристики двигательного паттерна используют ряд устоявшихся терминов (рис. 222).

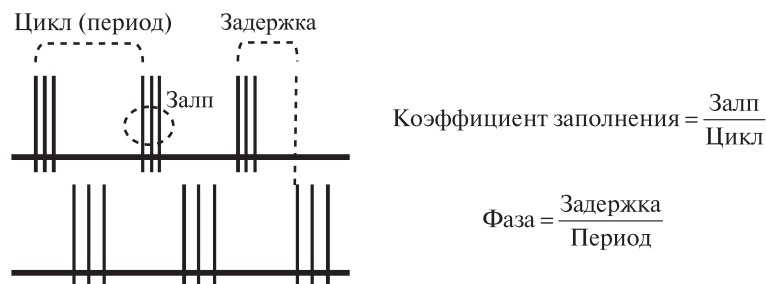


Рис. 222. Характеристики двигательного паттерна

Процесс идентификации составных элементов ЦГР представляет достаточно трудоемкую процедуру. В частности, сенсорные нейроны также удовлетворяют приведенному выше критерию вхождения в состав центрального генератора, поэтому ведущие исследователи проблемы предлагают сосредоточиться на анализе работы данных нейронных сетей, а не на установлении четких границ между «истинными» составляющими ЦГР и его внешней, в том числе и сенсорной, периферией. Вопрос о необходимости афферентных входов для функционирования ЦГР остается достаточно дискуссионным. С одной стороны, высказывается мнение, что чувствительные входы не являются необходимыми для генерации двигательных паттернов, а только регулируют их, а с другой — имеется немало

экспериментальных свидетельств о способности целого ряда факторов (прежде всего химической природы — нейромедиаторов и нейромодуляторов) активировать работу ЦГР.

Отсутствие спонтанного ритма в изолированном препарате ЦНС не есть доказательство отсутствия ЦГР в том или ином участке мозга.

Как правило, существует выраженная корреляция между двигательным паттерном *in vivo* и *in vitro*, хотя в ряде случаев (дыхательный ритм продолговатого мозга) это и не столь очевидно, что объясняется вхождением одних и тех же клеток в состав разных нейронных сетей, формирующих центральные генераторы, — явление характерно и для нейронных сетей беспозвоночных. В большинстве случаев сенсорные входы модулируют частоту ритма и необходимы для генерирования правильной фазы основного ритма.

Клеточные механизмы генерации ритма. Существует два типа нейронных сетей, ответственных за генерацию повторяющихся залпов импульсов, когда хотя бы один ее элемент (клетка) исходно способен генерировать высокочастотные разряды потенциалов действия (плато потенциалов), сопровождаемое их полным прекращением с последующим возобновлением по прошествии некоторого времени (рис. 223).

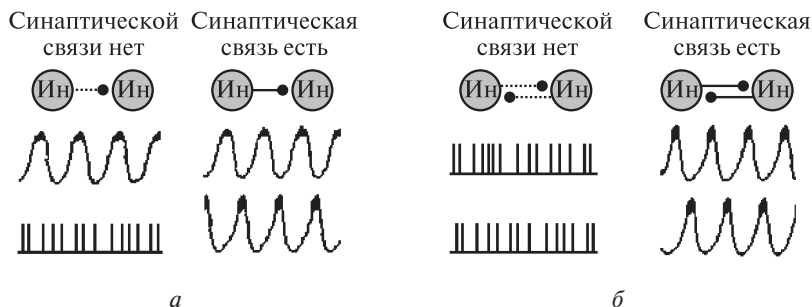


Рис. 223. Генерация ритма в нейронных сетях:
 а — при наличии водителя ритма (пейсмейкерные сети);
 б — при наличии двух полуцентров (сетевые осцилляторы);
 Ин — вставочные нейроны

При этом фактически имеет место постоянное чередование де- и гиперполяризации клеточной мембраны.

1. Пейсмейкерные сети (*pacemaker networks*) — используют нейроны-ритмоводители (пейсмейкерные клетки), связанные посредством щелевого контакта (электротонический синапс) или даже обычного химического синапса с клеткой, не обладающей исходной залповой активностью (рис. 223, а).

Фактически имеет место своеобразное «навязывание» ритма активности одного нейрона другому.

В случае пейсмекеров фаза потенциалзависимой деполяризации, включая и ее поддержание, обеспечивается за счет открытия соответствующих ионных каналов, прежде всего натриевых, кальциевых L-типа (HVA-каналы, *high voltage-activated channels*, $\text{Ca}_v1.1-1.3$) и неселективных катионных рецепторных каналов (каналы NMDA рецепторов, FMRF-активируемые Na^+ -каналы и др.).

Последующая реполяризация мембраны обеспечивается K^+ -каналами различных типов, а ключевая роль принадлежит Ca^{2+} -активируемым K^+ -каналам, открывающимся в ответ на поступление в клетку ионов кальция при деполяризации. Развивающаяся гиперполяризация мембраны приводит к закрытию потенциалактивируемых каналов и прекращению фазы плато. Снижение внутриклеточной концентрации кальция инактивирует Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы, подготавливая мембрану к новому циклу.

В ряде нейронов избыточная гиперполяризация вызывает появление деполяризующих токов (I_H -ток), обеспечивающих генерацию нового залпа импульсов. Кальциевые каналы T-типа (LVA-каналы, *low voltage-activated channels*, $\text{Ca}_v3.1-3.3$), открывающиеся даже при незначительной деполяризации, обнаружены в мембране сомы и дендритов нейронов, кардиомиоцитов, гладких мышц и опосредуют генерацию повторяющихся пачек импульсов. Имеются свидетельства о вовлеченности ряда K^+ -каналов, обеспечивающих возникновение ионных токов (задержанный неинактивирующийся выходящий и быстро инактивирующийся), в механизмы модуляции ритмической активности.

2. Сетевые осцилляторы (*network oscillators*) — опираются на взаимодействующие посредством химических синапсов клетки, лишенные собственной пейсмекерной активности (рис. 223, б);

Структурную основу другого подтипа сетевого осциллятора составляют два самостоятельных полуцентра (*half-center oscillator*). Нейроны, их образующие, соединены посредством тормозных синапсов (так называемое реципрокное торможение)¹.

Как это ни парадоксально, но сами нейроны полуцентров не обладают залповой активностью, что ясно демонстрируют эксперименты по фармакологической изоляции этих клеток друг от друга. Ключевым для понимания работы системы в целом является механизм перехода клеток от активации (залповая активность) к торможению (гиперполяризация мембраны и прекращение импульсации). При этом значимая роль отводится электрическим свойствам мембран синаптически взаимодействующих клеток (рис. 224).

¹Именно подобная модель была предложена Т. Броуном (1911) для объяснения управления фазовой работой мышц при движении у млекопитающих.

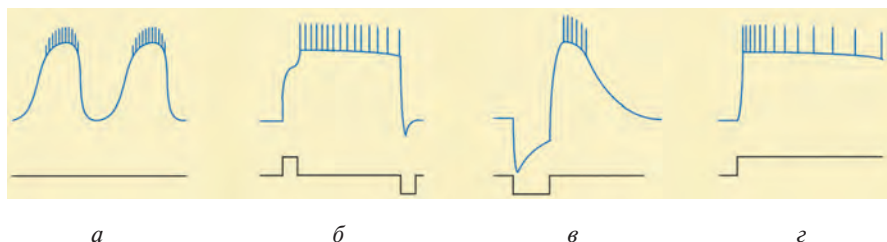


Рис. 224. Мембранные механизмы генерации ритма (по Marder & Bucher, 2001):
 а — эндогенная активность (пейсмейкер); б — плато потенциалов;
 в — посттормозная отдача; г — частотно-импульсная адаптация

В отличие от пейсмейкерных нейронов, способных к автономной генерации повторяющихся всплесков импульсов (рис. 224, а), деполяризующие токи, возникающие, например, как результат сторонних воздействий на клетку, инициируют развитие плато потенциалов (*plateau potentials*), прекращающихся в случае приложения к клетке гиперполяризующего импульса тока (рис. 224, б). В случае частотно-импульсной адаптации (*spike-frequency adaptation*) одна из клеток тандема постепенно замедляет генерацию импульсов, вплоть до ее полного прекращения, тем самым освобождая связанный с ней нейрон от тормозного воздействия (рис. 224, г). Высказывалось предположение, что Na^+ -зависимые K^+ -каналы вносят существенный вклад в развитие реполяризации мембраны, ведущей к угнетению залповой активности — развитие потенциала действия сопровождается входом ионов натрия внутрь клетки. Другой механизм, позволяющий одному из нейронов сети выйти из-под тормозного влияния, — посттормозная отдача (*postinhibitory rebound*), обусловленная возрастанием мембранной проводимости при выраженной гиперполяризации клетки (рис. 224, в).

Очевидна избыточность мембранных механизмов генерации и прекращения залповых разрядов, что продиктовано необходимостью обеспечения оптимального функционирования клеток в широком диапазоне условий.

Управление работой генераторов ритма. С полным основанием можно утверждать, что даже наиболее просто организованные животные демонстрируют *более одного* типа поведенческой активности, что неизбежно ставит вопрос о координации работы различных поведенческих программ и стоящих за ними нейронных генераторов. Одной из заслуживающих внимания теорий нисходящего контроля за работой ЦГР является концепция *командного нейрона*. Изначально под ним понимали клетку, тоническая стимуляция которой приводит к всестороннему внешнему проявлению какого-либо поведенческого паттерна животного (Wiersma & Ikeda, 1964). Это нейрон, функционирование которого необходимо и достаточно для того,

чтобы вызвать определенный тип поведения за счет активации определенного набора интер- и/или мотонейронов. Командные нейроны способны к генерации импульсов без обратной сенсорной связи, но сенсорные входы имеют важное значение, равно как и обратные связи от иннервируемых нейронных сетей.

Следует различать понятия «командный нейрон» и «пусковой (триггерный) нейрон» (рис. 225). В первом случае ЦГР продолжает работать до тех пор, пока активен командный нейрон, а второй вариант подразумевает сохранение функционирования ЦГР даже после прекращения пусковой импульсации триггерного нейрона.

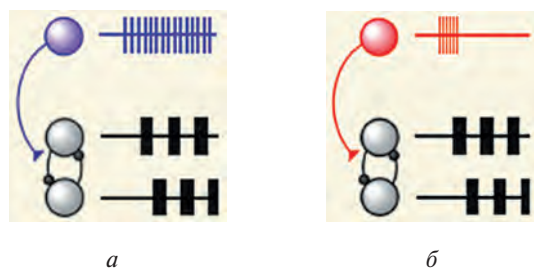


Рис. 225. Командный (а) и пусковой (б) нейроны
(по Marder e. a., 2005)

Наиболее простой вариант строения нервной системы, позволяющий поддерживать многие поведенческие паттерны, правда, крайне редко встречающийся в естественных условиях, — ее организация из отдельных для каждого типа поведения нейронных сетей, каждая со своим командным нейроном. Следует признать, что возможности данной конструкции весьма ограничены. Так, появление новых форм поведения потребовало бы построения новых сетей, т. е. новых, неиспользованных ранее нейронов, соединенных особым образом, что, учитывая практическую неизменность нервной системы взрослого индивидуума, представляется маловероятным. В результате организм, нервная система которого построена указанным образом, был бы способен только к детерминированным поведенческим актам.

Существует гораздо более изящный подход для решения проблемы координации активности различных моторных программ. Он заключается (рис. 226) в использовании одних и тех же элементов нейронных сетей для формирования разных моторных ответов со стороны этой сети под влиянием разных командных нейронов и/или нейромодуляторных веществ (гормоны, нейромедиаторы). При этом взаимодействие между командными нейронами также предопределяет конечный поведенческий паттерн.

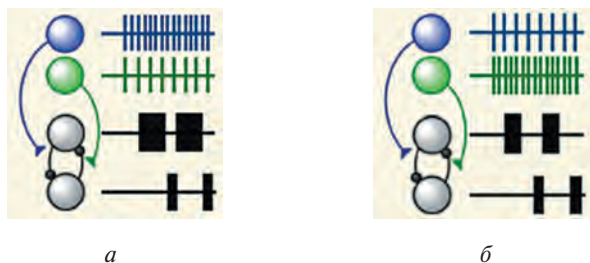


Рис. 226. Паттерн моторного ответа ЦГР при различной (а, б) активности командных нейронов сети (по Marder e. a., 2005)

Подобным образом организован контроль за движениями радулы у моллюска *Aplysia*, координация плавания и медленного перемещения (ползания) у пиявки *Hirudo medicinalis*, перемещения у моллюска *Tritonia*.

Концепции командного нейрона успешно противостоит гипотеза, допускающая прямое взаимодействие между различными генераторами. При этом типы двигательной активности и их координация определяются нейронной конфигурацией ЦГР. В наиболее простом случае речь идет о взаимодействии нейронных сетей на сегментарном уровне, как это отмечено для контроля за двигательной активностью у широкого спектра организмов (миноги, рыбы, головастики, тритоны, речные раки, пиявки).

Центральное положение в нейронных сетях сегмента спинного мозга миноги занимают возбуждающие интернейроны, активирующие пул ипсилатеральных мотонейронов и одновременно тормозящие работу контрлатеральных двигательных клеток за счет активации связанных с ними тормозных вставочных нейронов (рис. 227). Такая «симметричная» модель хорошо объясняет генерацию периодической двигательной активности в случаях, когда имеет место чередование моторных ответов, например последовательные изгибы тела вправо-влево при плавании, попеременное сгибание-разгибание конечности и т. п.

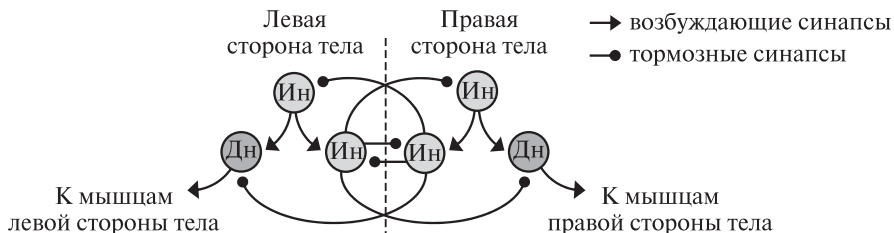


Рис. 227. Схема нейронных отношений в сегментарном ЦГР миноги (по Grillner, 2006).
ИИ, ДН – вставочные и двигательные нейроны

В большинстве случаев животные демонстрируют хотя бы некоторую асимметричность двигательных актов правой и левой стороны тела. Другими словами, существует отставание по фазе как в пределах одного, так и между сегментными ЦГР. Такая асимметричная активность наиболее характерна для наземной локомоции и может быть опосредована большей возбудимостью одного из полуцентров центрального генератора. При этом продолжительность более длительного залпа обуславливает менее возбудимая составляющая ЦГР (рис. 228).

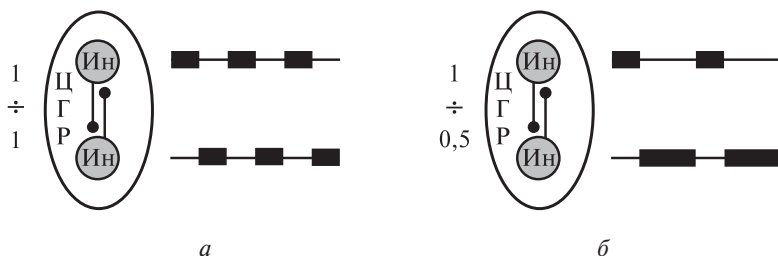


Рис. 228. Типы двигательной координации (по Grillner, 2006):

a — возбудимость полуцентров одинакова (1 : 1);

б — возбудимость полуцентров различна (1 : 0,5);

Ип — вставочные нейроны

Синхронизация активности полуцентров либо ЦГР достигается при их взаимном возбуждении. В результате обе составляющие работают в одинаковом частотном режиме, как, например, при галоупе. В случае различия в возбудимостях происходит либо навязывание ритма ведущего центра ведомому, либо появление временной задержки залпа ведомой составляющей.

Межсегментная координация активности ЦГР при формировании распространяющейся волны двигательной активности, инициирующей плавательные движения у самых различных организмов, обусловлена прямым взаимодействием последовательно связанных друг с другом генераторов с разной степенью возбудимости. Как правило, генераторы ростральных сегментов обладают большей возбудимостью и активируются сенсорными входами первыми, что приводит к распространению (с фазовой задержкой) волны возбуждения от головы к хвосту и движению животного вперед. Повышение возбудимости ЦГР в каудальных сегментах тела вызывает распространение двигательной волны в обратном, каудоростральном, направлении.

Понимание того, что один и тот же нейронный субстрат способен обеспечивать различные формы двигательных реакций организма, привело к формированию идеи о *модульной организации* ЦГР (S. Grillner, 2003). В этом случае отдельные генераторы, вовлекаемые в контроль за деятель-

ностью ограниченного числа мышц, например обеспечивающих антагонистические функции какого-либо соединения (сгибание-разгибание сустава), являются составной частью сложной нейронной сети, регулирующей моторные проявления организма в целом. В зависимости от привлекаемого в данный момент «набора» генераторов животное демонстрирует различные формы двигательной активности. Фактически происходит изменение нейронной конфигурации в пределах сети. Очевидно, что данное обстоятельство обусловлено как изменением возбудимости отдельных клеток сети, так и эффективностью синаптической передачи между ними. В связи с этим многократно возрастает роль нейромедиаторных и нейромодуляторных субстанций в контроле ритмической активности.

Под модульной организацией ЦГР иногда подразумевают несколько отличную от изложенной выше нейронную организацию (Р. Katz, 1996). В качестве модулей нейронной сети в ней выступают собственно ЦГР, командный нейрон, двигательные и сенсорные нейроны. Их взаимодействие и определяет поведенческий ответ.

Отдельный вклад в регуляцию работы ЦГР вносит сенсорная информация, поступающая по отросткам чувствительных нейронов с периферии. Несмотря на кажущуюся очевидность наличия *обратной связи* для нормального функционирования любой живой системы, ее значимость в полной мере была оценена только в XX веке с развитием кибернетики. Именно обратная афферентация превратила «разомкнутую» рефлекторную дугу в «замкнутую» рефлекторную петлю и явилась краеугольным камнем *теории функциональных систем* П. К. Анохина.

Медленные типы движений дают более надежную основу для их коррекции со стороны сенсорных входов по сравнению с быстрыми. В частности, подобные отношения характерны для ЦГР дыхания (информация с проприорецепторов необходима для окончания фазы вдоха) и медленной локомоции у позвоночных. Проекции сенсорных нейронов могут контактировать как с интернейронами генератора, так и с командными нейронами, корректируя паттерн двигательного ритма. Существуют свидетельства о наличии входов с одного ЦГР к сенсорным афферентам другого генератора, что лишний раз подчеркивает значимость сенсорной информации.

Обратная афферентация играет решающую роль при координации движений ноги (отдельных ее сочленений друг относительно друга) у шагающих насекомых, сокращения пилорических мышц желудка омара, движении радулы у *Aplysia* и крыльев у саранчи.

Свое действие сенсорные нейроны часто реализуют на пресинаптическом уровне посредством активации различных ГАМК-рецепторов (ГАМК_A-типа

при фазической регуляции эффективности в быстрых синапсах и ГАМК_B-типа при тонической — в медленных). Излишне говорить, что фармакологическая модуляция активности сенсорных нейронов автоматически отражается на свойствах всего нейронного ансамбля.

4.1.3. ОБЪЕМНАЯ И ПРОВОДНИКОВАЯ ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА

Разделение процессов межклеточной коммуникации на основании особенностей распространения и восприятия передаваемого сигнала было впервые проведено в работе Л. Агнати и соавторов (Agnati e. a., 1986).

Согласно высказанной концепции выделяют следующие способы передачи сигнала (рис. 229):

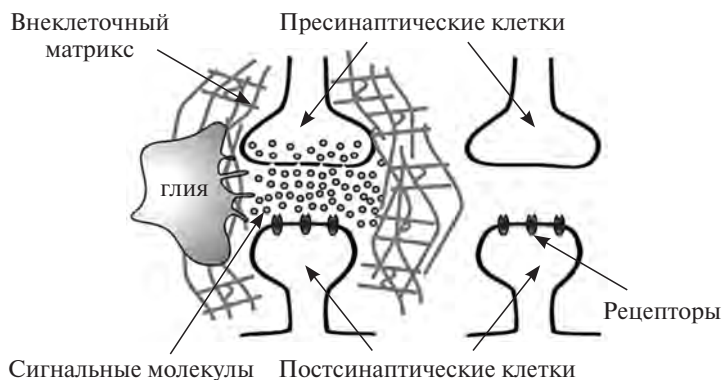
- **проводниковая** (*wiring transmission*) — способ межклеточной коммуникации, опосредованный детерминированной цепочкой клеток. При этом наблюдается передача сигнала от одной клетки к другой с коэффициентом $1 : 1$, т. е. на один источник сигнала (пресинаптическую клетку) приходится один приемник этого сигнала (постсинаптическая клетка). Представлена классической синаптической передачей, например в случаях простых рефлекторных дуг соматических рефлексов, хотя наличие в них вставочных нейронов несколько не соответствует декларируемому коэффициенту $1 : 1$;

- **объемная** (*volume transmission*) — способ межклеточной коммуникации, основанный на распространении сигнала в пределах межклеточного пространства во всех направлениях. При этом расстояние, на которое такой сигнал распространяется, значительно превышает размеры синаптической щели. Во внеклеточном пространстве сигнал распространяется по пути, обеспечивающему наибольшую скорость диффузии сигнальной молекулы. Передача сигнала происходит с коэффициентом $1 : n$, где $n \gg 1$. Таким образом, количество приемников сигнала значительно превышает количество источников исходного сигнала.

В развитие концепции объемной передачи сигнала было предложено разделить всю совокупность сигналов, воспринимаемых клетками нервной системы, на два класса (Agnati e. a., 1994):

- **специфические сигналы** — для их распознавания в клетке должны существовать специальные структуры, взаимодействующие с ними за счет высокоаффинного связывания, т. е. рецепторы. В эту группу входят нейромедиаторы и нейромодуляторы, высвобождаемые ограниченным количеством групп нервных клеток;

- **общедоступные сигналы** — генерируются и распознаются (декодируются) всеми нервными клетками, например электрические сигналы, температура, pH, свободные радикалы.



а



б

Рис. 229. Проводниковая (а) и объемная (б) передача сигнала (по Sykova, 2004)

Многие нейромедиаторы и нейромодуляторы способны выступать в качестве сигнальных молекул объемной передачи сигнала (рис. 230), однако со всей очевидностью эта роль наиболее характерна для газообразных нейромодуляторов, хотя многие нейропептиды и белковые факторы роста тоже относятся к паракринно действующим началам. Разумеется, что клетки — мишени объемной передачи сигнала обладают специфическими молекулами, способными воспринимать и распознавать исходный сигнал.

В современной нейробиологии уже не вызывает сомнений, что в мозге, помимо синаптической передачи, существует и другая, гормон-подобная передача сигнала. Основу такого **паракринного** (Murad, 1994) влияния составляет *генерализованное действие* того или иного вещества. При этом в от-

ветную реакцию вовлекается целая совокупность клеток, расположенных на некотором расстоянии от клетки, источника сигнала.

Такие общебиологические факторы, как температура, вне- и внутриклеточная концентрация H^+ (pH), уровень активных форм кислорода и азота, способны оказывать модулирующее влияние на процессы генерации сигнала и на процессы его восприятия и распознавания. Указанные физические и физико-химические начала с легкостью могут быть отнесены к группе общедоступных сигналов в самом широком понимании, поскольку практически любая клетка способна реагировать на изменение температуры, pH или свободнорадикального фона.

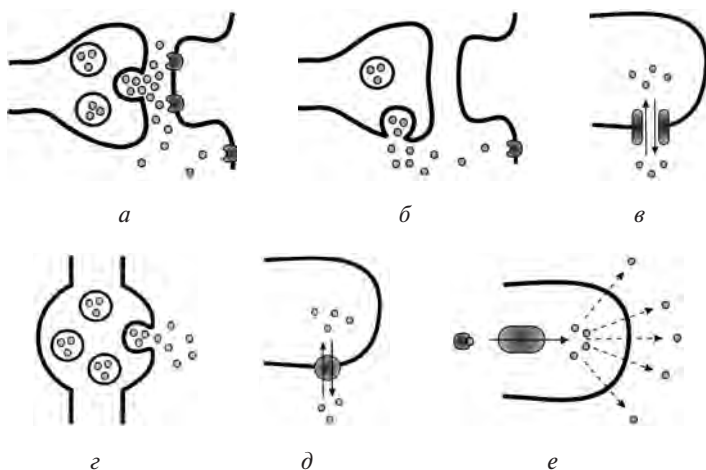


*Рис. 230. Некоторые источники сигналов
объемной передачи (по Sykova, 2004):*

- а* — избыточное выделение медиатора в синаптическую щель (аминокислоты); *б* — внесинаптическое везикулярное выделение сигнальных молекул (неuropeпиды); *в* — местные ионные потоки; *г* — варикозные расширения нервных волокон (катехоламины); *д* — обратный перенос нейромедиаторов посредством обращения работы мембранных транспортеров (глутамат, ГАМК, дофамин); *е* — газообразные нейромодуляторы (NO, CO)

Абиотические факторы внешней среды, как, например, **температура**, способны радикально изменить протекание процессов межклеточной коммуникации, прежде всего синаптической передачи. Очевидно, что любой из этапов химической передачи сигнала подвержен модулирующему влиянию температуры. В то же время различные нейромедиаторные системы демонстрируют неодинаковую температурную зависимость эффективности синаптической передачи (рис. 231).

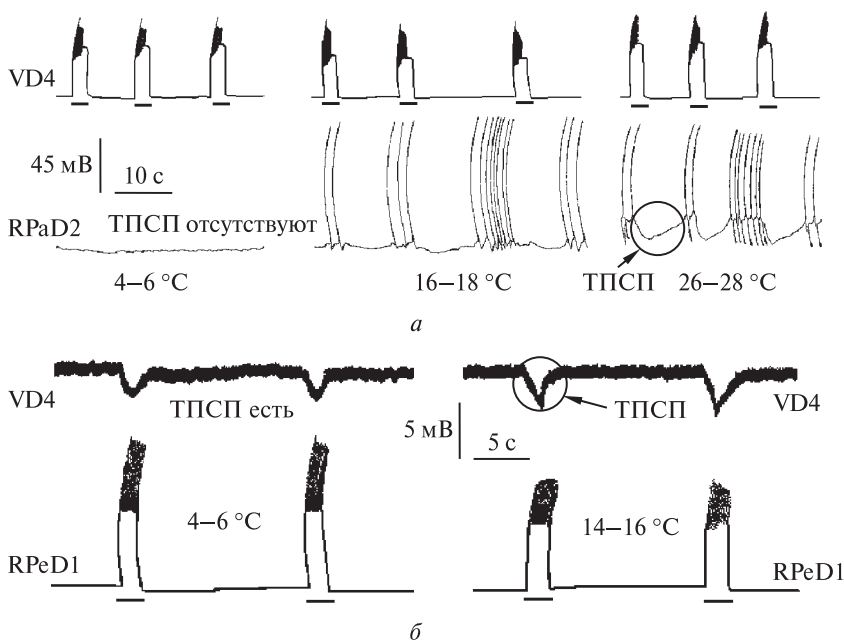


Рис. 231. Влияние температуры на пептидергическую (а) и дофаминергическую (б) моносинаптическую передачу в нервной системе моллюска *Lymnaea stagnalis* (по Sidorov, 2002). Деполаризующий импульс тока в пресинаптический нейрон отмечен чертой

В ЦНС тканевый ацидоз является одним из следствий ишемии мозга или развития различных воспалительных процессов (Lipton, 1999), а то, что даже малые сдвиги **уровня pH** способны вызвать выраженные изменения возбудимости нервных клеток, не вызывает сомнений (Schwiening, 2003).

В ходе тканевого ацидоза значение внеклеточного pH может снижаться более чем на две единицы по сравнению с исходным уровнем.

Помимо этого, сообщалось о модулирующем влиянии уровня pH на электрофизиологические характеристики Ca^{2+} -токов, а следовательно, и функционирование кальциевых каналов (Morad, 1988), натриевых каналов (Kellenderger & Schild, 2002), ГАМК-управляемых хлорных каналов (Pasternack e. a., 1996) и др. Совершенно очевидно, что эти данные свидетельствуют о вовлеченности синаптических механизмов (пре- и постсинаптических составляющих) в ответную реакцию организма на сдвиги внеклеточного pH. В частности, падение pH выражено подавляет дофамин- и пептидергическую передачу в нервной системе беспозвоночных (рис. 232).

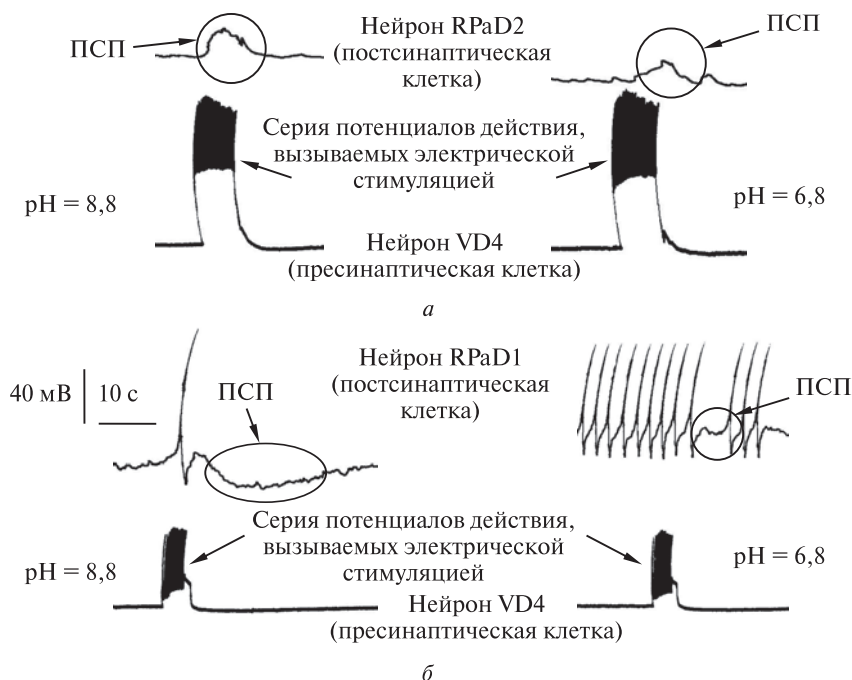


Рис. 232. Влияние pH на пептидергическую (FMRF-амид) моносинаптическую передачу в нервной системе моллюска *Lymnaea stagnalis*: а – между нейронами VD4 и RPaD2; б – между нейронами VD4 и RPeD1.

Деполаризационное направление ПСП (а) объясняется диффузией Cl^- из микроэлектрода и, как следствие, изменением потенциала инверсии для хлора

По видимому, протон – это самый «простой» лиганд, вовлеченный в процессы межклеточной коммуникации, выступающий, по меньшей мере, в качестве нейромодулятора. Изменение величины pH, а особенно закисление внеклеточной среды приводит к активации открытых в начале 80-х гг. XX века (Krishtal & Pidoplichko, 1980) *кислоточувствительных ионных каналов* (*acid-sensing ion channels*, ASIC), широко представленных в сенсорных нейронах спинномозговых ганглиев, нейронах ЦНС и клетках глии (олигодендроциты). Падение pH приводит к открытию этих неселективных катионных каналов ($\text{Na}^+ > \text{Ca}^{2+} > \text{K}^+$), изменяет возбудимость нейронной мембраны, что и опосредует реакцию соответствующей клетки. Физиологическая роль ASIC оценена не полностью, хотя не вызывает сомнений их вовлеченность в процессы, связанные с болевой чувствительностью (McCleskey & Gold, 1999). Возможно, сдвиги pH внутренней среды орга-

низма играют регуляторную роль, неодинаково модулируя работу функционально различных нейронных сетей и, как следствие, контролируемых ими форм поведенческой активности (Сидоров, 2011).

В течение продолжительного периода времени физиологическая роль **свободных радикалов**, в том числе и активных форм кислорода (АФК), сводилась к участию в развитии и поддержании целого спектра патологических процессов на клеточном, тканевом и организменном уровнях. Изменение содержания биорадикалов во внутренней среде отмечено при ряде нейродегенеративных заболеваний (болезни Альцгеймера, Паркинсона, Шарко (боковой амиотрофический склероз), нарушениях кровоснабжения (ишемии) мозга и сердца, воспалительных процессах. Одной из важнейших гипотез старения организма является свободнорадикальная теория, связывающая процессы постепенного угасания функций с накоплением АФК.

Открытие фермента, специально предназначенного для продукции свободнорадикальных форм кислорода ($\cdot\text{O}_2^-$), *НАДФН-оксидазы*, позволило взглянуть на выполняемую АФК роль под другим углом. В частности, усиленная генерация супероксид аниона клетками иммунной системы (так называемый дыхательный взрыв фагоцитов) представляет собой основной компонент неспецифической внутритканевой защиты. Установление сигнальных свойств у молекулы монооксида азота (NO), обладающей неспаренным электроном и, следовательно, также рассматриваемой в качестве биорадикала, позволило предположить участие АФК в процессах передачи информации.

Активные формы кислорода представляют собой высокореакционно-способные соединения, содержащие кислород. К ним относятся: *супероксид анион* ($\cdot\text{O}_2^-$), *пероксид водорода* (H_2O_2) и *гидроксильный радикал* ($\cdot\text{OH}$). Исходной формой является супероксид анион, представляющий собой побочный продукт функционирования электронтранспортной цепи митохондрий. Именно H_2O_2 вызывает наибольший интерес как сигнальная молекула из всего семейства АФК — пероксид водорода является наиболее стабильной и долгоживущей активной формой кислорода, легко проникает через мембраны, более устойчив во внеклеточном пространстве, нежели в цитозоле, не вызывает неспецифическое перекисное окисление липидов мембран при умеренной (менее 30 мин) экспозиции.

В середине 90-х гг. XX века была высказана гипотеза об АФК (супероксид анионе) как внутриклеточных передатчиках сигнала, а затем и как агентах межклеточной коммуникации. Высокая насыщенность пре- и постсинаптических участков нейронов большим количеством митохондрий обеспечивает повышенную продукцию АФК и способствует модуляции синаптической передачи (рис. 233).

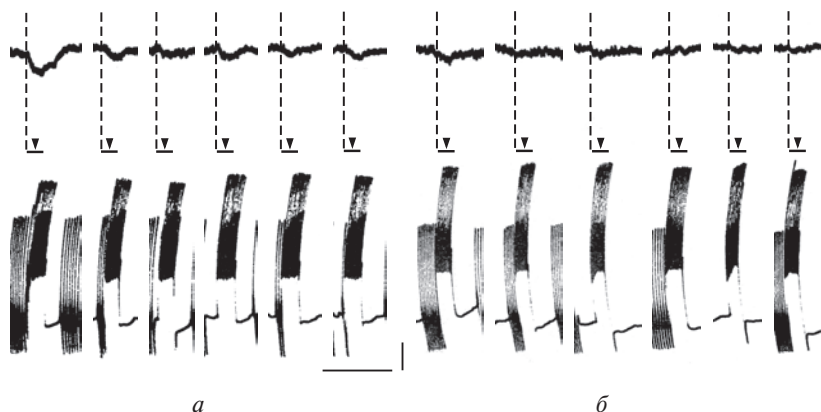


Рис. 233. Влияние H_2O_2 (10^{-4} моль/л) на эффективность химической передачи в дофаминергических синапсах ЦНС моллюска *Lymnaea stagnalis*:

a – контрольные условия; *б* – при действия пероксида водорода RPeD1 (нижняя линия записи) и VD4 (верхняя линия записи).

Момент подачи импульса тока в RPeD1 отмечен чертой с треугольником.

Пунктирные линии приведены для наглядности изменения мембранного потенциала VD4. Калибровка: по времени – 5 с, по амплитуде – 2,5 мВ (для VD4) и 25 мВ (для RPeD1)

Проницаемость щелевых контактов также подвержена действию неспецифических экстраинаптических факторов (температура, pH, свободнорадикальный фон) (см. подразд. 4.3).

В завершение еще раз подчеркнем, что генерализованные влияния факторов объемной передачи сигнала реализуются посредством одномоментного вовлечения в ответную реакцию множества компонентов нейронных сетей.

4.1.4. РАСПРОСТРАНЕНИЕ СИГНАЛОВ В НЕЙРОННЫХ СЕТЯХ

Первоначально подавляющее большинство клеточных моделей организации нервных центров было основано на допущении прямых (синаптических) контактов между взаимодействующими клетками. Среди всего разнообразия теоретических построений, определяющих архитектуру мозга, выделим лишь наиболее значимые с точки зрения обеспечения интегративной и координационной деятельности нервной системы:

- **дивергенцию (иррадиацию)**: «одна рецепторная точка в состоянии рефлекторно воздействовать на значительное число различных эффекторных органов» (Э. Пфлюгер, 1853);

• **конвергенцию** — принцип *общего конечного пути*, реализуемый за счет преобладания количества афферентных входов над количеством эфферентных выходов из ЦНС (Ч. Шеррингтон, 1906).

Интересно, но эти два базовых положения одинаково применимы и в случае химической сигнализации между клетками, и даже в отношении внутриклеточной сигнализации (рис. 234).

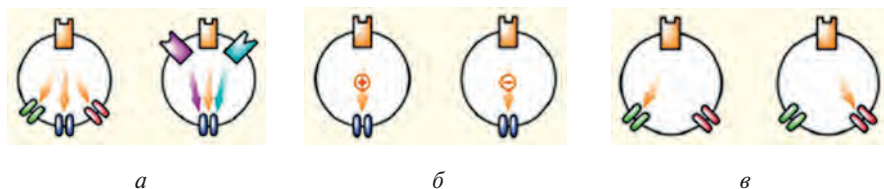


Рис. 234. Дивергенция и конвергенция химических сигналов на клеточном уровне (по Marder e. a., 2005):
 а — связывание сигнальной молекулы с рецептором вызывает эффекты в отношении нескольких внутриклеточных целей (дивергенция), а активация рецепторов к разным лигандам может приводить к модификации одной внутриклеточной мишени (конвергенция);
 б — один и тот же лиганд при связывании с рецептором оказывает разнонаправленное действие в разных нейронах (одинаковые внутриклеточные мишени);
 в — один и тот же лиганд при связывании с рецептором оказывает разнонаправленное действие в разных нейронах (разные внутриклеточные мишени)

С этих позиций концепция объемной передачи сигнала в случае «химического» мозга выступает как аналог дивергенции для синаптически соединенных нейронов, а наличие нескольких рецепторов (к разным сигнальным молекулам) обеспечивает схождение (конвергенцию) химического сигнала на одной клетке. В результате обеспечивается поразительное разнообразие ответных реакций клетки при относительно небольшом количестве сигнальных молекул.

Во второй половине XX века И. А. Булыгин¹ высказал идею о **единстве и взаимосвязи дивергенции и конвергенции**: «...первичной все же является дивергенция, вторичной — конвергенция» (Булыгин, 1975, 1981). В частности, им было указано: «Если дивергенция определяет диффузный характер распространения возбуждения по всей нервной системе или в ее значительной части и в связи с этим *генерализованную* реакцию организма, то связанная с ней конвергенция (вызванная одновременным или последова-

¹И. А. Булыгин (1907–1984) с 1953 по 1984 г. был директором Института физиологии АН БССР.

тельным взаимодействием двух или нескольких таких диффузных реакций при раздражении различных входов в ЦНС) придает этому возбуждению такие черты, формирует такую центрально-эффекторную функциональную структуру (угнетая возбуждение в одних участках нервной системы, усиливая в других), которые обуславливают *оптимальный*, строго дифференцированный (специфический) характер реакций организма, соответствующий сложившейся внешней ситуации и внутреннему состоянию организма»¹.

При объемной передаче сигналов значимую в межнейронных взаимодействиях роль приобретают клетки глии (астроциты). Можно выделить несколько аспектов такой сигнализации:

- **регуляцию калиевого гомеостаза** — интенсификация электрической активности нейронов приводит к локальному увеличению (от 3 до 10–12 мМ и даже выше) внеклеточной концентрации K^+ по сравнению с исходным уровнем (при развитии потенциала действия в клетку поступают ионы натрия (деполяризация), а выходят ионы калия (реполяризация)). С учетом высокой зависимости мембранного потенциала и, как следствие, всей общей возбудимости нейрона от внеклеточной концентрации калия (см. подразд. 2.3, рис. 130), поддержание калиевого гомеостаза критически значимо для нормальной работы целых популяций нервных клеток. Астроциты обеспечивают утилизацию избытка ионов калия посредством активации K^+ -каналов внутреннего выпрямления (*inward rectifier K^+ channels*) или Na^+/K^+ -АТФазы;

- **секрецию сигнальных молекул** (*концепцию глиотрансмиссии*) — астроциты и другие клетки глии способны выделять во внеклеточное пространство целый ряд веществ нейромедиаторной/нейромодуляторной природы — глутамат, ГАМК, АТФ, серин, таурин. В качестве путей переноса через мембрану могут быть использованы как трансмембранные каналы (неспаренные коннексоны, образующие поры рецепторы ($P2X_7$), активируемые изменением объема хлорные каналы), так и мембранные транспортеры (обращение работы транспортера для возбуждающих аминокислот (EAAT), Cys-Glu антипортер) или Ca^{2+} -зависимый экзоцитоз;

Расположенные на отростках астроцитов рецепторы могут быть активированы молекулами нейромедиатора, выделяемого из нервных терминалей.

- **челночный транспорт**, ограничивающий концентрацию выделившихся аминокислотных нейромедиаторов в заданном участке мозга (см. подразд. 3.2, рис. 203).

Помимо межклеточного пространства, существует и другой путь, по которому сигналы могут распространяться от клетки к клетке по всем

¹Буллыгин И. А. Взаимосвязь явлений дивергенции и конвергенции как общий принцип деятельности нервной системы. Минск, 1981. С. 99.

направлениям. Это внутриклеточное пространство расположенных рядом нейронов, соединенных посредством щелевого контакта. В отличие от первого (внеклеточного) пути он представляет собой хорошо регулируемый путь, позволяющий координировать работу функционально однородных нейронов.

Известно о том, что синтезируемый амакриновыми клетками сетчатки глицин может поступать в связанные с ними биполярные клетки через щелевой контакт.

Функционирование этого же пути характерно и для клеток глии с их, по сути, синтициальной организацией (рис. 235).

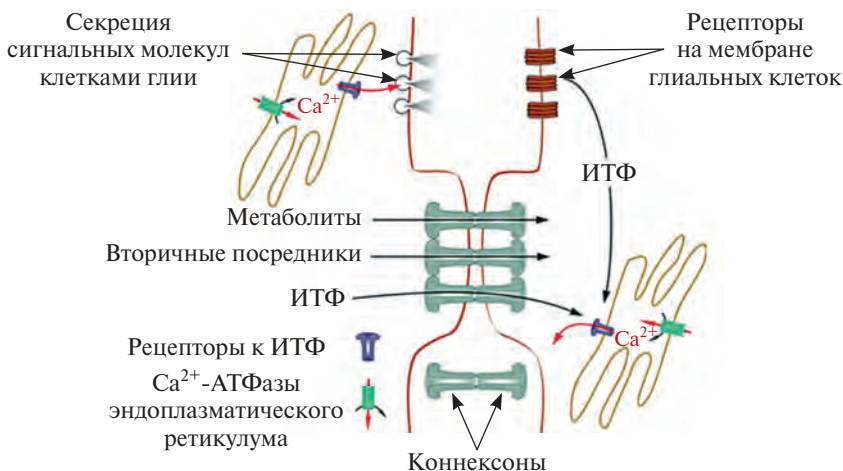


Рис. 235. Распространение внутриклеточных сигналов в клетках глии (по Chun e. a., 2015)

Скорость распространения сигнала по таким путям значительно ниже, чем в случае прямых межклеточных взаимодействий, даже основанных на функционировании химических синапсов (секунды/минуты в противовес миллисекундам в случае межнейронной коммуникации), что предполагает их участие преимущественно в качестве нейромодуляторов.

4.2. МОДЕЛЬНЫЕ НЕЙРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОБЪЕКТЫ И НЕЙРОННЫЕ СЕТИ

Основное преимущество беспозвоночных в качестве объектов нейробиологических исследований состоит в возможности идентификации отдельных нервных клеток у любого представителя вида (о идентифицируемых нейронах подробнее см. подразд. 1.1). Начиная с пионерских работ А. Ходжкина и Э. Хаксли, выполненных на гигантском аксоне кальмара (*Loligo forbesii* Steenstrup, 1856), использование беспозвоночных в нейрофизиологии является общепринятым.

Э. Эдриан (1889–1977), первым в 1930 г. зарегистрировавший электрическую активность отдельных нервных клеток (аксонов), отмечал, что «по общему характеру активности нейроны гусениц не отличаются существенно от нейронов позвоночных».

В течение 60–70-х гг. XX века были составлены карты идентификации нервных клеток нервной системы либо ее частей для моллюсков (*Aplysia*, *Navanax*, *Tritonia*, *Helix*, *Helisoma*, *Limax* и др.), членистоногих (омар, речной рак, таракан, саранча), кольчатых червей (медицинская пиявка) и др. Особенно плодотворным оказалось введение в практику исследований (благодаря усилиям А. Арванитакиса и Л. Тауца) моллюска *Aplysia* с его сверхгигантскими нейронами.

Анжелика
Арванитакис
(Angélique
Arvanitaki,
1901–1983)



Ладислав Тауц
(Ladislav Tauc,
1926–1999)

Этот организм оказался необычайно удобным для изучения нейрофизиологических основ поведения и научения, позволил установить многие из клеточных и молекулярных механизмов, обеспечивающих развитие долговременных изменений синаптической эффективности, лежащих в основе научения и памяти.

4.2.1. НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРЕСНОВОДНОГО ЛЕГОЧНОГО МОЛЛЮСКА *LYMNAEA STAGNALIS*

Пресноводный легочный моллюск *Lymnaea stagnalis* (прудовик обыкновенный) привлек внимание нейрофизиологов в последние десятилетия XX века. Преимущества, предоставляемые его нервной системой для нейрофизиологических исследований, подытожены в статье J. Mills'a, W. Winlow'a с весьма символическим названием: «Мозг прудового моллюска — ответ на мольбу нейрофизиолога?» (1979). Среди прочего было указано на относительно небольшое количество соединительной ткани вокруг ганглиев, расположение тел ярко окрашенных нейронов на внешней поверхности ганглиев, незначительную степень концентрации узлов, возможность ионофоретических инъекций красителей как в тела нервных клеток, так и ретроградное заполнение нервных стволов для последующей визуализации афферентных и эфферентных путей. Вдобавок особи *Lymnaea stagnalis* хорошо переносят хирургические манипуляции, а их содержание в лабораторных условиях не требует особых материальных затрат.

Тело прудовика (рис. 236) асимметричное и подразделяется на туловище (нога, висцеральный, или внутренностный, мешок и мантия) и голову (иногда говорят о голове-ноге), способную втягиваться в раковину.



Рис. 236. Пресноводный легочный моллюск *Lymnaea stagnalis*:
а — внешний вид; б — схемы фронтолатеральной (справа)
и латеральной (слева, раковина удалена) проекций тела

Внутренностный мешок и мантия соединены с головой посредством дорсальной части головы-ноги — *клюмеллы*, или *ножки*. Ротовое отверстие расположено на вентральной стороне головы.

С дорсальной стороны голова не отграничена от остального тела. Здесь она несет пару щупалец и расположенные у их основания, ближе к переднему краю, глаза. В области перехода на вентральную сторону находятся губы (нижняя и две боковых). Нога, с ползательной подошвой, отделена от головы поперечным желобом треугольной формы, суживается к заднему концу.

Нервная система у прудовика относится к разбросанно-узловому типу. Клетки (нейроны и глия) находятся в составе крупных (5–10 мм) ганглиев (рис. 237).

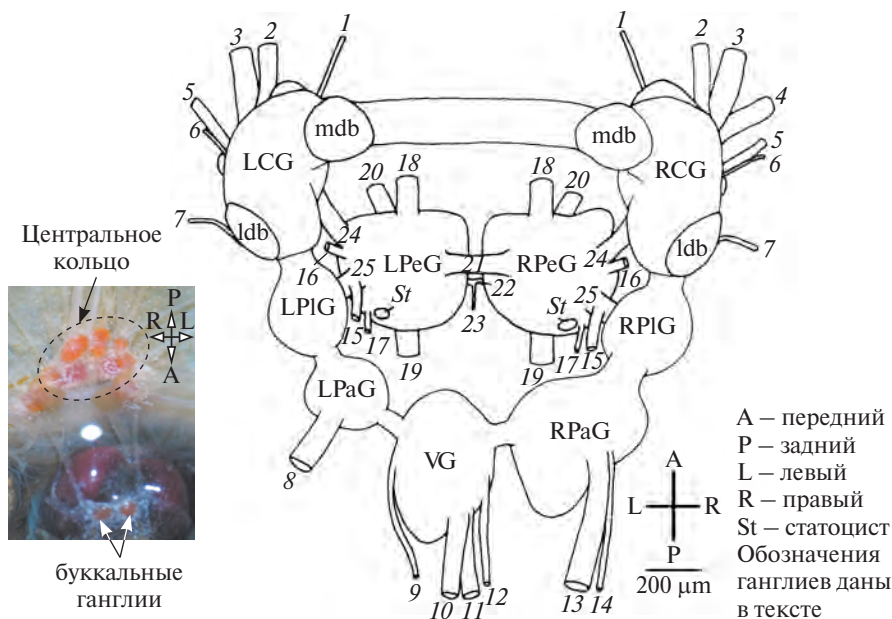


Рис. 237. Нервная система *Lymnaea stagnalis* (схематическое изображение центрального кольца ганглиев по Slade e. a., 1981):

- 1 — церебробуккальная коннектива; 2 — верхний губной нерв;
3 — средний губной нерв; 4 — нерв пениса; 5 — щупальцевый нерв; 6 — оптический нерв;
7 — затылочный нерв; 8 — левый париеальный нерв; 9 — кожно-мантийный нерв;
10 — интестинальный нерв; 11 — анальный нерв; 12 — генитальный нерв;
13 — правый внутренний мантийный нерв; 14 — правый наружный мантийный нерв;
15 — нижний шейный нерв; 16 — верхний шейный нерв; 17 — коллюмельярный нерв;
18 — верхний педальный нерв; 19 — нижний педальный нерв;
20 — средний педальный нерв; 21 — дорсальная педальная комиссура;
22 — вентральная педальная комиссура; 23 — средний коллюмельярный нерв;
24 — церебропедальная коннектива; 25 — педальноплевральная коннектива

Основной структурой является центральное кольцо ганглиев — замкнутое, ярко-окрашенное образование вокруг пищевода. Оно состоит из парных (правых и левых) педальных (R/LPeG), плевральных (R/LPIG), церебральных (R/LCG), неравнопарных париетальных (R/LPaG) и непарного висцерального узлов (VG) с отходящими от них нервами. Церебробуккальная коннектива связывает центральное кольцо ганглиев с буккальными узлами, соединенными одноименной комиссурой и расположенными над буккальной массой. В церебральных ганглиях дополнительно выделяют *мезоцеребрум*, *медио-* и *латеродорсальные тела* (medio-, lateral dorsal body, m/ldb), являющиеся эндокринными железами *Lymnaea stagnalis*.

Все нервы, отходящие от центральных ганглиев, — смешанные, содержат как афферентные, так и эфферентные волокна. Ветви от буккальных ганглиев иннервируют мышцы буккальной массы, слюнные протоки и начало пищевода; от церебральных — органы головы (рот, щупальца, губы); от плевральных — область ножки; от педальных — ногу и коллюмельярную мускулатуру; от париетальных и висцерального ганглия — комплекс висцеральных органов внутренностного мешка.

Идентифицируемые нейроны и нейронные сети. Работы, посвященные идентификации нейронов у *Lymnaea stagnalis*, массово стали появляться в научной печати в середине 70-х гг. XX века. Своеобразной вехой в развитии исследований мозга прудовика явился выход в 1976 г. сборника научных статей «Neurobiology of Invertebrates. Gastropoda Brain» под редакцией профессора J. Salanki из Балатонского лимнологического института (Венгрия). В нем впервые были представлены данные по локализации крупных индивидуальных клеток и скоплений нейронов в пределах центральных ганглиев.

В центральных ганглиях прудовика насчитывается около 1500 нейронов при общем количестве клеток нервной ткани в 15 000. Их идентификация проводится по размеру, расположению в пределах того или иного ганглия, цвету, величине мембранного потенциала, электрофизиологическим характеристикам потенциала действия, паттерну спонтанной активности, характеру синаптических связей. В ряде случаев верифицировать отдельные клетки не представляется реальным, но можно определить их принадлежность к тому или иному кластеру (группе). Следует заметить, что у некоторых особей нейроны могут менять свое привычное положение, что затрудняет их идентификацию. В любом случае рекомендуется ориентироваться на целый комплекс признаков для идентификации той или иной клетки.

Номенклатура, используемая для характеристики индивидуальных нейронов и их скоплений у *Lymnaea stagnalis*, основана на описании положения клетки в пределах определенного ганглия. Впервые ее принципы были изложены в работе P. Benjamin и W. Winlow (1981). Было предложено использовать следующие комбинации (рис. 238).



Рис. 238. Номенклатура идентифицируемых нейронов (а) и их скоплений (б) в центральных ганглиях *Lymnaea stagnalis*:

1 — сокращенное название ганглия; 2 — сторона ганглия;

3 — порядковый номер нейрона в ганглии;

4 — порядковый номер скопления в ганглии

Первые буквы представляют собой сокращенное (одно- или двухбуквенное) название ганглия (R — правый или L — левый в случае парных структур): RPe, LPe — правый и левый pedalные; RPl, LPl — правый и левый pleuralные; RC, LC — правый и левый cerebralные; RPa, LPa — правый и левый parietalные; V — visceralный ганглий. Следующая буква указывает на поверхность ганглия, в котором расположен нейрон: D — dorsalная, V — ventralная. Последняя цифра аббревиатуры — это порядковый номер нейрона, данный ему при первом описании автором (как правило, нумерация идет по направлению от заднего конца тела к переднему). В случаях со скоплениями нейронов после приведенного сокращенного названия добавляется слово «группа» или «кластер». При этом последняя буква обозначает порядковый номер скопления в ганглии.

Клеточная организация мозга прудовика изучена неравномерно. Так, вследствие особенностей анатомической организации дорсальная поверхность нервной системы исследована более полно по сравнению с вентральной.

Наличие в составе нервной системы прудовика множества крупных (80–120 мкм) ярко, по-разному окрашенных клеток, нередко с уникальными электрофизиологическими характеристиками, позволило определить основные составляющие целого ряда нейронных сетей, вовлеченных в реализацию соответствующих форм поведения моллюска (дыхательное, пищевое, оборонительное, локомоторное, половое и др.).

Описание отдельных нейронов само по себе представляется малоинформативным, поскольку не включает характер взаимодействий между ними. Поэтому в качестве примера охарактеризуем их в составе крупных нейронных ансамблей, вовлеченных в реализацию дыхательного поведения, и контролирующей его нейронной сети.

Легочная респирация *Lymnaea*. Нормальный респираторный акт состоит из комплекса стереотипных движений. Он начинается с перемещения особи в сторону водной поверхности. Когда края губ касаются поверхностной пленки, отмечается движение раковины против часовой стрелки, времен-

ное прекращение локомоции и выдвижение пневмостома. Затем дыхательное отверстие открывается, выпускается пузырек воздуха, прорывающий пленку водной поверхности (рис. 239).

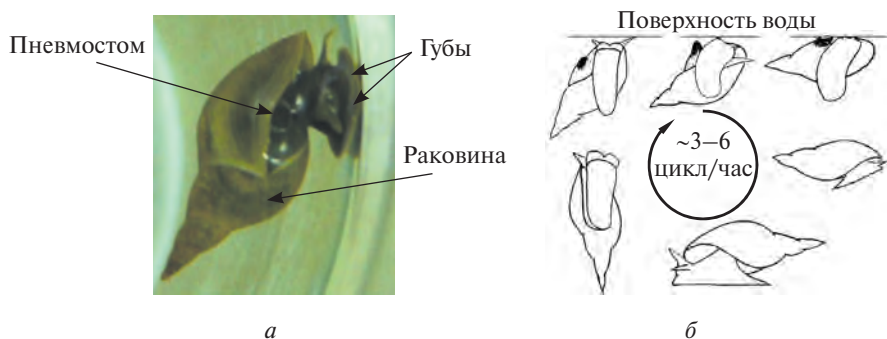


Рис. 239. Легочное дыхание у *Lymnaea stagnalis*:
а — внешний вид; б — схема дыхательного цикла

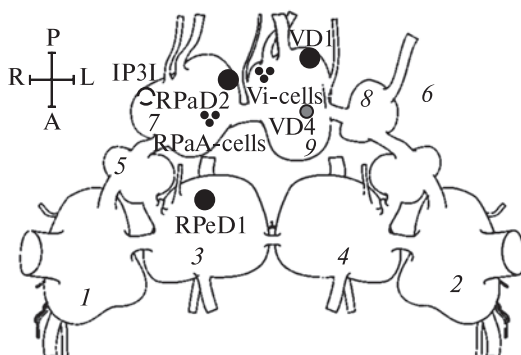
Непосредственно процесс самого дыхания занимает 45–60 с. Однако в ряде случаев могут наблюдаться отдельные акты длительностью до 2 мин и более. После этого дыхательное отверстие закрывается и моллюск, как правило, покидает поверхность воды.

Нейронная сеть легочной респирации. Для описания центрального контроля дыхательной активности *Lymnaea stagnalis* предложена классическая структура центрального генератора ритма. Его ядро составляет группа из трех интернейронов (рис. 240).

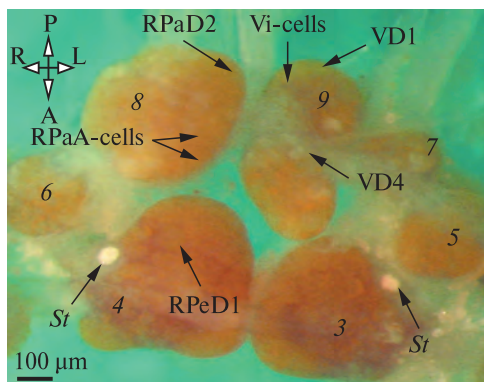
Гигантский дофаминергический нейрон RPeD1 имеет светло-оранжевую окраску и расположен на задней дорсальной поверхности правого pedalного ганглия, медиальнее статоциста. Его размеры составляют около 150 мкм. Интернейрон VD4 находится на поверхности непарного висцерального узла: сома белого цвета, размеры около 50 мкм, содержит ацетилхолин и FMRFамид. Нейрон Ip3I локализуется на вентральной поверхности правого париетального ганглия, что затрудняет прямую регистрацию его электрической активности. Однако благодаря обильным синаптическим связям, образованным данным нейроном, мониторинг за его работой может быть успешно осуществлен. Двигательные нейроны дыхательной сети входят в состав клеточных скоплений висцерального и париетального ганглиев.

Нейроны А-группы картируются на медиальном крае дорсальной поверхности правого париетального ганглия. Клетки оранжевого цвета, их диаметр варьирует от 30 до 100 мкм, участвуют в иннервации мускулатуры крыши легочной полости. На правой стороне дорсальной поверхности висцерального ганглия находятся висцеральные Н, I, J, К-клетки. Их цвет

колеблется от белого до оранжевого, а размеры составляют 40–100 мкм. Указанная нейронная популяция достаточно разнородна по выполняемым функциям. Так, Vi,j-клетки относятся к мотонейронам, открывающим пневмостом, а V_k-клетки закрывают дыхательное отверстие. Среди клеток Н, I группы имеются двигательные нейроны мускулатуры сердца, что заставляет говорить о наличии общей кардиореспираторной сети.



a



b

Рис. 240. Нейроны дыхательной сети

Lymnaea stagnalis (по Сидорову, 2011):

- 1, 2 – правый и левый церебральный; 3, 4 – правый и левый педальный; 5, 6 – правый и левый плевральный;
- 7, 8 – левый и правый парietальный ганглии;
- 9 – висцеральный ганглий; St – статист;
 - a – схема расположения в ганглиях;
 - b – общий вид центральных ганглиев

В состав респираторной сети входят и нейроны VD1/RPaD2. Данная пара интернейронов является двусторонне электрически связанной. RPaD2 расположен на поверхности правого париетального ганглия, сома бело-оранжевого цвета, размер около 75 мкм. VD1 залегает на заднем крае висцерального ганглия, беловатого цвета, размер около 80 мкм. Оба нейрона содержат АКТГ-подобный пептид. Наиболее легко данная пара идентифицируется по электрофизиологическим характеристикам, так как потенциалы действия генерируются в нейронах, ее составляющих, строго синхронно в соотношении 1 : 1.

Центральный генератор респираторного ритма представляет собой типичный нейронный осциллятор (рис. 241).

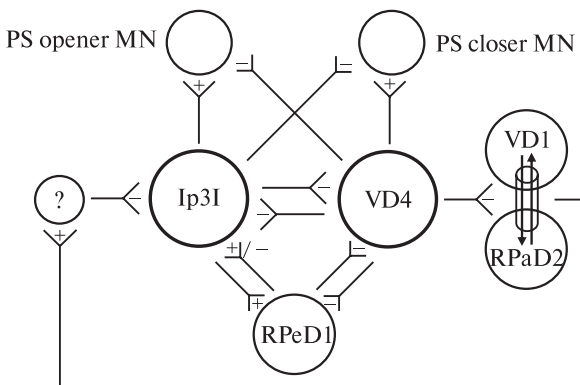


Рис. 241. Схема дыхательной сети
Lymnaea stagnalis (по Сидорову, 2011):

знак «+» — возбуждающие,
знак «-» — тормозные химические синапсы;
обоюдная стрелка — электрический синапс,
знак «?» — гипотетические структурные элементы;
MN — мотонейроны, открывающие (opener)
и закрывающие (closer) пневмостом (PS)

В его структуре роль полуцентров выполняют нейроны VD4 и Ip3I. Электростимуляция VD4 приводит к возникновению возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП) в мотонейронах, иннервирующих мышцы, закрывающие пневмостом и одновременно с этим к генерации тормозных постсинаптических потенциалов (ТПСП) в мотонейронах, обслуживающих мышцы, открывающие пневмостом. Электрическое раздражение нейрона Ip3I приводит к противоположным эффектам.

Структура ЦГР, помимо двух действующих начал (полуцентров), включает звено, ответственное за запуск работы всего нейронного ансамбля.

В настоящее время предложено два кандидата на эту роль: нейрон RPeD1 и пара электрически связанных нейронов VD1/RPaD2. Усиление электрической активности RPeD1 приводит к возбуждению Ip3I посредством срабатывания связанного тормозно-возбуждающего синапса (*conjoint inhibitory-excitatory synapse*). В ранних работах активация Ip3I предполагалась по механизму посттормозной отдачи (*post-inhibitory rebound*), когда возбуждение следует за торможением и определяется в первую очередь свойствами мембраны постсинаптической клетки.

Вопрос об исходной активации RPeD1 в ходе инициации дыхательной программы в ЦНС *Lytnaea* во многом носит дискуссионный характер. С одной стороны, было показано, что за этот процесс ответственны синаптические входы со стороны нейронов осфрадия, небольшого периферического ганглия, содержащего преимущественно хемосенсорные клетки. С другой стороны, выявлено наличие собственной чувствительности RPeD1 к напряжению кислорода, выражающейся в изменении характера его импульсации, прежде всего ее частотной составляющей.

Регуляция дыхания у водных организмов основана на детекции уровня pO_2 , а не pCO_2 (или концентрации H^+ , т. е. pH) во внутренней среде организма из-за значительно большей растворимости углекислоты в воде по сравнению с таковой для кислорода.

Будучи однажды активированным, Ip3I в свою очередь возбуждает RPeD1, замыкая петлю положительной обратной связи. С нейроном VD4 нейрон RPeD1 находится в реципрокных тормозных отношениях. Электрическая стимуляция RPeD1 вызывает появление ВПСП в мотонейронах, иннервирующих мышцы, сокращение которых вызывает закрытие пневмостома. Во время активности Ip3I передача возбуждения с RPeD1 на соответствующие мотонейроны блокируется за счет пресинаптического торможения.

Пара электрически сопряженных нейронов VD1/RPaD2 способна быстро реагировать резкой гиперполяризацией на понижение pO_2 . Предполагается, что мощная (около 10 мВ) гиперполяризация указанных нейронов тормозит работу нейрона, в норме ингибирующего активность Ip3I. Результатом такого «двойного отрицания» является растормаживание Ip3I и, как следствие, активация всей дыхательной программы. При этом VD4 формирует тормозные синапсы на данных клетках, что может стимулировать активность Ip3I после генерации VD4 пачки импульсов.

Активность ЦГР дыхания, как фактически и любого нейронного осциллятора, может быть модифицирована синаптическими входами со стороны чувствительных нейронов: механосенсорных, реагирующих на тактильную стимуляцию различных участков кожи и/или хемосенсорных, отвечающих на изменение химического состава внешней (внутренней)

среды. Кроме того, возможна и прямая модификация свойств нейронов ЦГР дыхания различными неспецифическими экстраинаптическими факторами объемной передачи сигнала (температура, рН, АФК).

«Расшифровка» нейронной организации дыхательной сети позволила использовать ее для изучения клеточных механизмов, определяющих реализацию инструментального рефлекса, создания моделей межнейронных взаимодействий *in vitro* и т. п.

4.2.2. КЛЕТочная организация мозжечка

Одним из наиболее подробно изученных на клеточном уровне участков мозга позвоночных является мозжечок. Его нейронная организация может служить примером строения сложных нейронных сетей, вовлеченных в контроль двигательной активности позвоночных. Полушария мозжечка состоят из расположенного внутри белого вещества и тонкой пластинки серого вещества, покрывающего его по периферии — *коры мозжечка*. В толще белого вещества находятся скопления тел нервных клеток — глубокие *ядра мозжечка* (парные зубчатое, пробковидное, шаровидное и шатра).

В коре мозжечка выделяют три слоя (рис. 242):

- **молекулярный** — содержит дендриты клеток Пуркинье, звездчатые и корзинчатые клетки, параллельные волокна (отростки гранулярных клеток зернистого слоя);

- **клеток Пуркинье** — включает тела нейронов Пуркинье и поддерживающих их глиальных клеток Бергмана;

- **зернистый** — здесь находятся клетки-зерна, клетки Гольджи, клетки Люгаро, униполярные кистевые клетки (клетки кисти), а также моховидные и лазающие волокна, берущие начало от ядер, расположенных за пределами мозжечка.

Интернейроны коры мозжечка представлены клетками нескольких типов (рис. 243):

- **клетки Пуркинье** (описаны Я. Е. Пуркинье в 1837 г. как одни из первых клеточных структур в составе мозга и в последующем названы в его честь) образуют слой толщиной в одну клетку. Это нейроны с хорошо развитым ветвящимся дендритным деревом и крупным телом. Дендриты уплощены в плоскости, перпендикулярной складкам мозжечка, и формируют сеть, через которую параллельные волокна проходят под прямым углом. Характеризуются чрезвычайно развитым шипиковым аппаратом — насчитывается ~200 000 шипиков на одном нейроне (наибольшее количество из известных синаптических входов на одной клетке). Коллатерали аксона обнаруживаются в ближайших частях коры, а сам аксон следует к глубоким ядрам мозжечка, образуя до 1 тыс. контактов (каждый) с разными типами клеток

ядер, находящихся в ограниченном участке пространства. В качестве нейромедиатора используют ГАМК, поэтому относятся к нейронам тормозного типа, формируя единственный моторный выход из коры мозжечка.

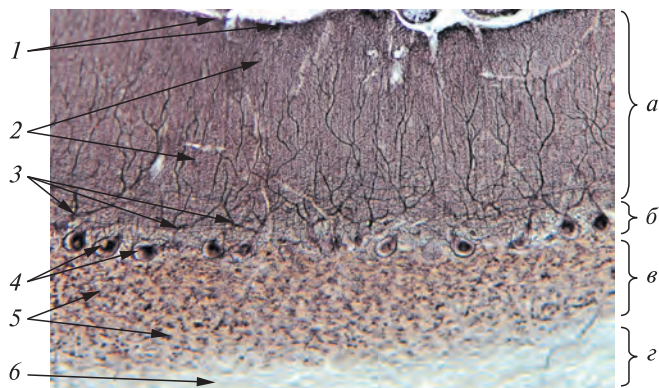


Рис. 242. Мозжечок собаки (фрагмент) (импрегнация серебром), объектив $\times 10$:
a — молекулярный слой, *б* — слой клеток Пуркинье,
в — зернистый слой, *г* — белое вещество;
1 — поверхность коры; *2* — нейроны молекулярного слоя;
3 — проксимальные участки дендритного дерева нейронов Пуркинье;
4 — тела нейронов Пуркинье; *5* — тела зернистых нейронов;
б — волокна белого вещества

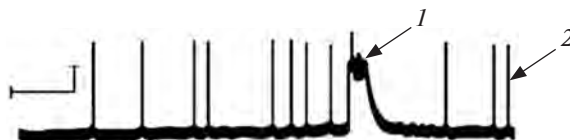


Рис. 243. Электрическая активность клеток Пуркинье (по Дж. Николс и др., 2003):
1 — комплексный спайк; *2* — простой спайк.
 Калибровка: по времени — 50 мс, по амплитуде — 10 мВ

В дольках мозжечка, регулирующих движения глаз и обрабатывающих вестибулярную информацию, клетки Пуркинье формируют тормозные входы и на гранулярных клетках зернистого слоя.

Различают два типа электрической активности клеток Пуркинье (рис. 244): — *простые импульсы (спайки)*, возникающие с частотой 17–150 Гц спонтанно или в результате активации синаптических входов с параллельных волокон;

— *комплексные импульсы (спайки)*, 1–3 Гц, связаны с активацией лазающих волокон и имеют выраженную фазу «плато» (исходный высокоамплитудный спайк сменяется пачкой высокочастотных с низкой амплитудой импульсов), наблюдаются при низких частотах базального ритма (~1 Гц, не превышая 10 Гц). В их формировании принимают участие кальциевые каналы Р-типа. Во время генерации комплексных спайков простые спайки обычно подавлены;

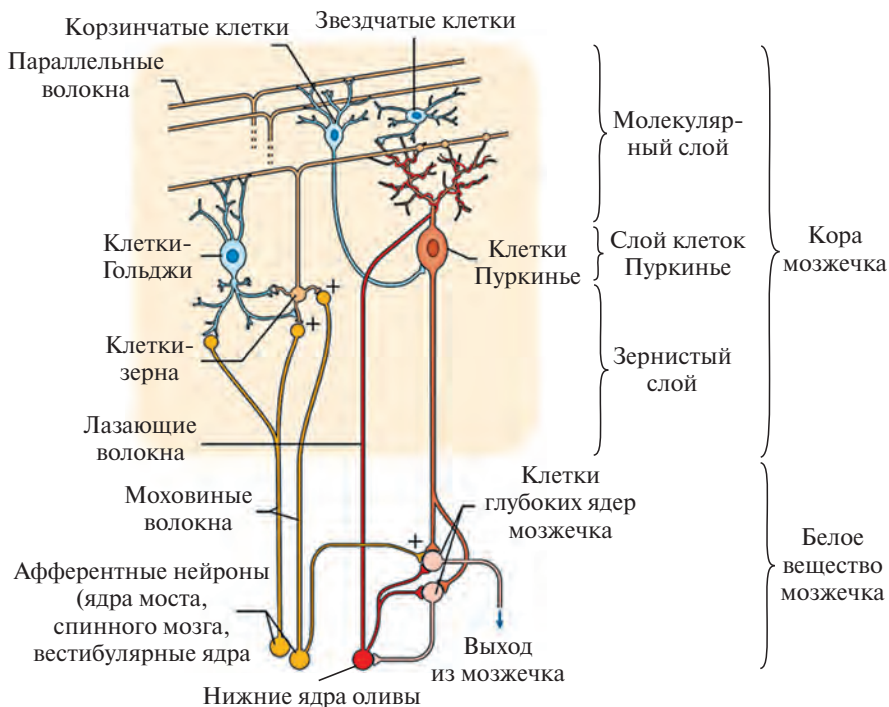


Рис. 244. Нейронные сети мозжечка (упрощенная схема)
(по D'Angelo & Casali, 2013).

Знак «+» — возбуждающие химические синапсы (афферентные входы)

- **клетки-зерна** (гранулярные, или зернистые, нейроны) — одни из самых маленьких нейронов мозга, но зато самые многочисленные (у человека их насчитывается ~50 млрд, т. е. почти $\frac{2}{3}$ всех нейронов мозга — это клетки-зерна мозжечка). Образуют всего несколько дендритов (4–5), заканчивающихся расширением — «дендритная лапка», места синаптических контактов с моховидными волокнами и отростками клеток Гольджи. Аксоны тонкие, немиелинизированные, направляются вверх к поверх-

ности коры и перпендикулярно их ходу делятся надвое (в форме буквы Т), формируя параллельные волокна (у человека простираются на 3 мм от точки ветвления в каждую сторону, т. е. суммарно на 6 мм, что составляет $\frac{1}{10}$ протяженности по ширине коры мозжечка). Контактируют с дендритами 3–5 клеток Пуркинье, через сеть которых они проходят, параллельные волокна формируют 80–100 синапсов с шипиками клеток Пуркинье. Клетки-зерна содержат глутамат в качестве нейромедиатора и относятся к возбуждающим нейронам;

- **клетки Гольджи** — неоднородная популяция тормозных интернейронов, насчитывающая 5 подтипов, использующих ГАМК, глицин или обе эти аминокислоты в качестве нейромедиатора. Формируют тормозные синапсы на клетках-зернах (в местах их контактов с моховидными волокнами) и параллельными волокнами;

- **нейроны Люгаро** — веретеновидной формы, расположены сразу под слоем клеток Пуркинье в верхних областях зернистого слоя, относятся к тормозным нейронам. Их толстые основные дендриты простираются в горизонтальном направлении и образуют контакты с 5–15 клетками Пуркинье. Мелкие дендриты клеток Люгаро «контролируют» области пространства вокруг нейронов Пуркинье, а также получают синаптические входы от мелких ветвей их аксонов. Аксоны клеток Люгаро формируют синаптические контакты только с тормозными интернейронами коры мозжечка (клетки Гольджи (одновременно до ста нейронов), корзинчатые и звездчатые клетки);

- **униполярные кистевые клетки** (*unipolar brush cell*) — глутаматсодержащие возбуждающие интернейроны зернистого слоя, круглой или овальной формы, часто со сформированными филоподиями, единственный отросток которых образует концевые разветвления — дендриоли (кисть). Получают возбуждающие входы от моховидных волокон и образуют синапсы с клетками-зернами и другими униполярными кистевыми клетками (возбуждающие нейроны локальной сети, *local circuit neurons*);

- **звездчатые клетки** — расположенные в молекулярном слое коры, тормозные, ГАМК-содержащие нейроны, получающие возбуждающие входы от параллельных волокон (клеток-зерен) и формирующих синапсы на теле и аксонном холмике клеток Пуркинье;

- **корзинчатые клетки** — их расположение и синаптические связи совпадают с таковыми для звездчатых клеток, что указывает на общность происхождения этих нейронов.

Белое вещество мозжечка представлено двумя основными типами волокон:

- **моховидные волокна** — берут начало от ядер моста, спинного мозга и вестибулярных ядер, вступают в мозжечок через его среднюю и нижнюю ножки, насчитывая порядка 200 млн единиц. Их окончания образуют разветвления или «розетки», — на одно волокно приходится 20–30 розе-

ток, каждая из которых вступает в контакт с ~20 дендритными лапками клеток-зерен. В результате одно моховидное волокно иннервирует около 400–600 гранулярных клеток.

Окруженные глиальными клетками области таких контактов, содержащие и терминали клеток Гольджи, известны как клубочки мозжечка (*glomerulus cerebellaris*).

В качестве нейромедиатора используют глутамат, формируя возбуждающие синапсы как на клетках-зернах, так и на терминалях клеток Гольджи и даже нейронах ядер мозжечка;

- **лазающие волокна** — берут начало от нижних ядер оливы контрлатеральной стороны (к ним имеются входы от ядер спинного мозга, ствола мозга, коры больших полушарий). Дают ветвь к ядрам мозжечка, а в коре распадаются на 1–10 ветвей, каждая из которых идет к клетке Пуркинье, «обвивая» ее и формируя до 350 возбуждающих синапсов на теле и проксимальных дендритах, т. е. участках, свободных от синапсов параллельных волокон. Единичный импульс в лазающих волокнах легко порождает комплексный спайк в клетках Пуркинье.

Отростки нейронов ядер мозжечка образуют основной пул волокон, покидающих мозжечок (рис. 245). Исключение составляют пучки волокон клочково-узелковой доли, направляющиеся к вестибулярным ядрам ствола мозга (моста) и представляющие собой отростки клеток Пуркинье.

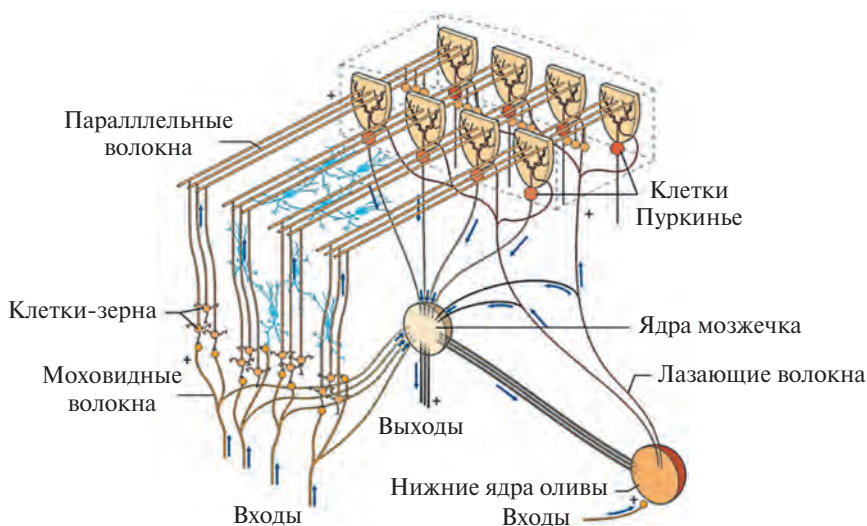


Рис. 245. Модульная организация мозжечка (по D'Angelo & Casali, 2013)

Аксон одной клетки Пуркинье ветвится, образуя контакты одновременно с несколькими десятками нейронов ядер мозжечка (35 для мозжечка кошки), а одиночный нейрон ядра получает синаптические входы от примерно 860 клеток Пуркинье.

Большинство нейронов в составе ядер мозжечка — это крупные нейроны с развитым сферическим дендритным деревом (~400 мкм в диаметре), использующие глутамат в качестве нейромедиатора и формирующие возбуждающие синапсы, обеспечивающие функционирование эфферентных путей мозжечка (к вестибулярным и ядрам ретикулярной формации, красному ядру, ядрам таламуса и далее к коре больших полушарий).

Мелкие нейроны ядер мозжечка содержат ГАМК и формируют тормозные синапсы на клетках из состава нижних ядер оливы (источник лазающих волокон), замыкая, таким образом, петлю отрицательной обратной связи.

Рассмотренные системы связей как в случае с модельными, так и с просто организованными нейронными сетями послужили основой для изучения интегративных функций мозга, определяемых характером межнейронных взаимодействий, т. е. эффективностью передачи сигнала через область синаптического контакта.

Амбициозные проекты имеются и в отношении картирования мозга высших позвоночных, включая человека, — *Human Connectome Project*, начатый в 2009 г. и ставивший целью создание полной карты связей между нервными центрами (в большей степени, нежели картирование индивидуальных нейронов) в здоровом мозге человека (*коннектома*) преимущественно методами магнитно-резонансной томографии. Однако степень разрешающей способности такого метода пока относительно невелика (доли миллиметра для лучших томографов), что явно уступает детализации, которая может быть достигнута с использованием микроскопической техники. **Коннектомика**, т. е. картирование и анализ архитектуры нейрональных связей, является одним из перспективных направлений исследований в области нейроморфологии и нейрофизиологии.

4.3. ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ

Квантовая гипотеза (см. подразд. 2.4) позволяет оценить эффективность изменения синаптической передачи и относительный вклад пре- и постсинаптических факторов в этот процесс. Средняя амплитуда синаптических потенциалов (*эффективность синапса*) определяется как

$$\bar{E} = m \cdot \bar{q},$$

где $\bar{q}$ — средняя амплитуда единичных синаптических потенциалов; m — средний квантовый выход.

При этом величина m отражает вклад пресинаптических механизмов, а $\bar{q}$ характеризует реакцию постсинаптической мембраны на один квант медиатора и во многом зависит от свойств постсинаптической клетки. Другими словами, итоговая реакция клетки, интегрированной в нейронную сеть мозга, определяется как ее собственными свойствами (числом и типом рецепторов к нейромедиатору, электрическими характеристиками мембраны в плане способности к пространственной и временной суммации), так и характером изменений в пресинаптических терминалях, формирующих на ней определенное количество синаптических входов.

Д. Хебб (Donald Hebb, 1904—1985) в 1949 г. высказал предположение, что увеличение эффективности синаптической передачи, лежащей в основе научения (*learning*), связано с изменениями, протекающими на уровне пресинаптического нейрона. Нейронная интеграция, основанная на способности к суммации синаптических потенциалов, также вносит свой вклад в итоговый ответ клетки на активацию конкретного синаптического пути, однако количество нейромедиатора, выбрасываемого в синаптическую щель, видимо, является определяющим при формировании реакции со стороны постсинаптического нейрона.

Как и в случае с другими открытиями в нейробиологии, оценка изменений эффективности синаптической передачи была бы невозможна без использования соответствующих модельных систем. В их качестве выступают участки мозга беспозвоночных: нейронные сети моллюска *Aplysia* (исторически первые), изучение которых расширило понимание не только

электрофизиологических, но и молекулярных механизмов определяющих степень сопряженности нейронов сети, и позвоночных: нейронные сети гиппокампа (рис. 246) с их упорядоченным расположением клеточных слоев и ходом нервных волокон, позволяющих расположить стимулирующие электроды на специфических входных путях при одновременной внутриклеточной регистрации ответов постсинаптических структур.

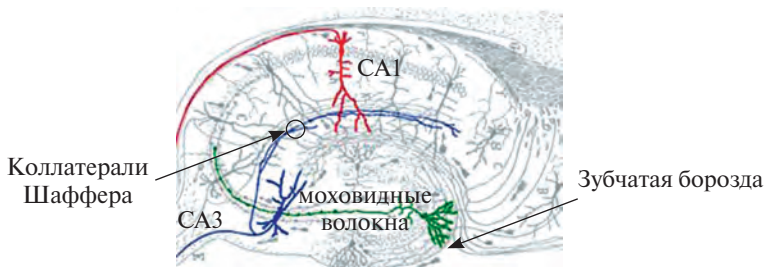


Рис. 246. Упрощенная схема организации нейронной сети гиппокампа (по Lüscher & Malenka, 2012).

Синаптические контакты между нейронами области CA3 (пресинаптические клетки, синий цвет) и CA1 (постсинаптические клетки, красный цвет) — засисимая от NMDA-рецепторов форма долговременной потенциации. Синапсы между моховидными волокнами (пресинаптические терминалы, зеленый цвет) и областью CA3 (постсинаптические нейроны) — незасисимая от NMDA-рецепторов форма долговременной потенциации

В 1973 г. Т. Блосс (Т. Bliss) и Т. Ломо (Т. Lømo) опубликовали статью, в которой показали значительное увеличение синаптических ответов клеток гиппокампа кроликов в результате высокочастотной стимуляции входов к этим клеткам, сохранявшееся в течение многих часов и даже дней — *долговременная потенциация* (см. далее).

4.3.1. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СИНАПСОВ И ЭФФЕКТИВНОСТЬ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ

Согласно одному из традиционных подходов выделяют два вида процессов, оказывающих влияние на эффективность синапсов:

- **гомосинаптические** (*внутренние*): изменения определяются активностью того же синаптического пути;
- **гетеросинаптические** (*внешние*): изменения определяются активностью другого (соседнего) синаптического пути, воздействующего на данный синаптический путь.

Если с характеристикой первой группы определиться достаточно легко (дальнейшее разделение основано на временной сохранности вызываемых изменений), то вторая — гораздо более гетерогенная (рис. 247).

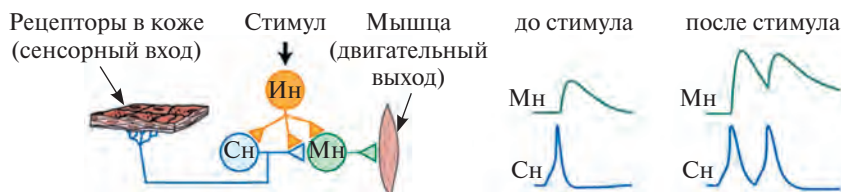


Рис. 247. Гетеросинаптическое облегчение в нейронных сетях *Aplysia* (по J. Byrne & R. Hawkins, 2015): Сн — сенсорные, Ин — вставочные, Мн — двигательные нейроны

Связано это прежде всего с тем, что существует как минимум несколько точек приложения влияния сторонних синаптических путей к рассматриваемому синаптическому соединению: сам пресинаптический нейрон (как его сома и дендритное дерево, так и терминали аксона) и постсинаптическая клетка.

Важнейшей особенностью аксо-аксональных синапсов, обеспечивающих протекание гетеросинаптических процессов, является возможность реализации **пресинаптического торможения**. Впервые оно было обнаружено Дж. Дуделем и С. Куффлером (Dudel & Kuffler, 1960, 1961) при изучении нервно-мышечного синапса речного рака (рис. 248).

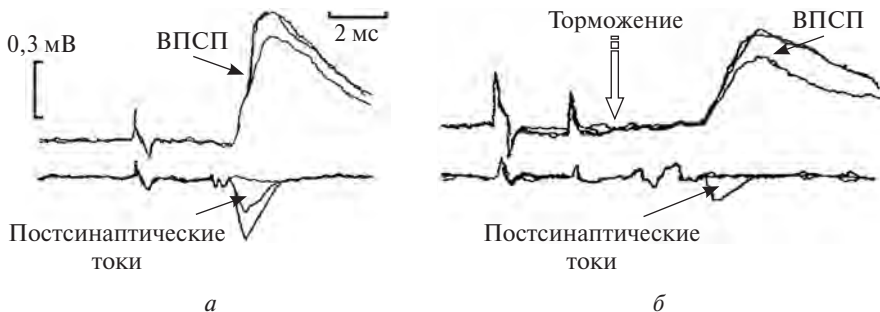


Рис. 248. Пресинаптическое торможение (по Dudel, 1965): а — контрольные условия; б — при стимуляции тормозного аксона

Оно длится всего несколько сотен миллисекунд, достаточно эффективно снижая количество высвобождаемых квантов медиатора, и не влияет на проводимость постсинаптической мембраны. Пресинаптическое торможение осуществляется химическим путем. В качестве нейромедиато-

ра используется ГАМК. У беспозвоночных она обеспечивает увеличение проницаемости мембраны пресинаптического волокна для ионов хлора. В результате входящий поток Cl^- нейтрализует положительно заряженные ионы натрия, поступающие внутрь при развитии потенциала действия. Как следствие, наблюдается снижение уровня деполяризации, что радикально уменьшает количество поступающих внутрь клетки ионов кальция.

В ЦНС млекопитающих пресинаптическое торможение может реализоваться посредством другого механизма. ГАМК вызывает стойкую деполяризацию пресинаптического волокна, инактивируя потенциалзависимые Na^+ -каналы. Это приводит к тому, что потенциал действия не может пройти через этот участок мембраны в пресинаптическую терминаль и вызвать поступление в нее ионов кальция. Кроме того, низкий уровень мембранного потенциала приводит и к инаktivации потенциалчувствительных кальциевых каналов, что напрямую снизит поступление Ca^{2+} в нервную терминаль и ограничит выход нейромедиатора.

В основе такой первичной деполяризации афферентов (*primary afferent depolarization*, PAD) лежат изменения мембранной проницаемости для ионов хлора. Нервные окончания содержат относительно большое (локальное) количество Cl^- , поэтому открытие хлорного канала (активация ГАМК_A-рецептора) вызывает движение этого иона не внутрь клетки, а наружу (по локальному градиенту концентрации), тем самым деполяризуя мембрану пресинаптической терминали (см. инверсию синаптического потенциала на рис. 232).

Пресинаптическое облегчение было обнаружено при изучении рефлекса стягивания жабры у *Aplysia* (Castellucci & Kandel, 1975). В этом случае стимуляция пресинаптического входа вызывает увеличение квантового выхода медиатора и не влияет на чувствительность к нему рецептора постсинаптической мембраны (см. рис. 247). При этом раздражение нервных волокон вызывает выделение серотонина (5-НТ), стимулирующего метаботропные рецепторы, связанные с $\text{G}\alpha_s$ белками. Результатом наработки цАМФ и последующей активации А-киназы будет фосфорилирование белка калиевого канала, снижающее проводимость этой трансмембранной поры. Это задерживает реполяризацию мембраны после прохождения потенциала действия, дольше оставляя ее в состоянии деполяризации, что вызывает дополнительный приток ионов кальция (потенциалчувствительные, HVA, кальциевые каналы дольше остаются в открытом состоянии) в пресинаптическое волокно и увеличивает количество высвобождаемого медиатора (см. также рис. 254, а, б).

Кальциевая проницаемость, от которой зависит выделение медиатора в синаптическую щель, напрямую определяется уровнем мембранного потенциала. Даже небольшие изменения последнего способны кардинально повлиять на высвобождение медиатора, т. е. эффективность синапса. Так, устойчивая деполяриза-

ция инактивирует потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы и, следовательно, приток кальция в клетку. В то же время легкая гиперполяризация пресинаптического волокна способна снять их инактивацию, увеличив в итоге выделение медиатора.

Помимо этого, под действием серотонина может возрасть число импульсов, генерируемых пресинаптическим (сенсорным) нейроном в ответ на активную стимуляцию его рецепторных окончаний в коже (см. рис. 247). В результате помимо эффекта, связанного с возрастанием частоты стимуляции (см. кратковременные изменения синаптической эффективности), дополнительно могут быть реализованы механизмы временной суммации синаптических потенциалов.

Гетеросинаптические процессы могут быть связаны не только с прямым синаптическим действием стороннего синаптического пути (формирование контакта на пресинаптической клетке), но и обусловлены диффузией медиатора из области соседнего синапса и даже ретроградной передачей (см. ниже) от постсинаптической клетки, т. е. факторами объемной передачи сигнала (рис. 249).

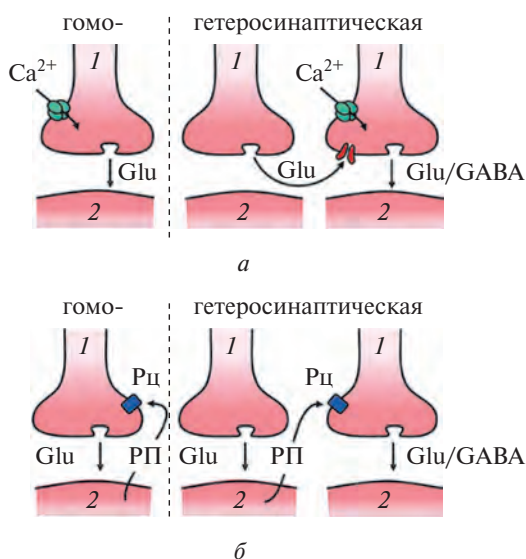


Рис. 249. Схема гомо- и гетеросинаптической пластичности без (а) и с использованием (б) ретроградного передатчика (по Castillo, 2015):

1 — пресинаптическая клетка;

2 — постсинаптическая клетка;

Glu — глутамат, GABA — ГАМК;

РП — ретроградный передатчик; Рц — рецептор

Формы синаптической пластичности во многом определяются протоколами стимуляции пресинаптического волокна, а также системой связей в том или ином участке мозга, различаясь для гиппокампа, участков новой коры и мозжечка.

4.3.2. ВРЕМЕННАЯ ЗАВИСИМОСТЬ ЭФФЕКТИВНОСТИ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ

В основе другой классификации изменений эффективности синаптической передачи лежит длительность (сохранность) вызываемых модификаций:

- **кратковременные:** происходят в течение нескольких секунд и/или минут, после чего активность синаптического пути возвращается к исходному значению;
- **долговременные:** могут длиться несколько часов и дней, предполагается, что именно они являются физиологическими коррелятами научения и памяти.

Важно понимать, что *оба* этих типа применимы и реализуются как в гомо-, так и в гетеросинаптических процессах.

Кратковременные изменения характерны для всех отделов нервной системы позвоночных и беспозвоночных животных, но прежде всего для ее периферичных элементов. Различия между основными типами основаны на протоколах стимуляции, их вызывающих, и постоянной времени, описывающей возвращение возникших изменений эффективности синаптической передачи к исходному уровню.

Выделяют следующие типы **кратковременных изменений**.

1. **Синаптическое облегчение** (*facilitation*): стимуляция пресинаптического волокна коротким залпом импульсов приводит к увеличению амплитуды ПСП в ответ на одиночный стимул в пресинаптическом волокне по сравнению с исходными, до стимуляции, условиями.

Речь может также идти о ситуации (рис. 250, *a*), когда облегчение развивается уже в случае двух последовательных разделенных небольшим временным отрезком (до 10 мс) спайков: амплитуда синаптического потенциала в случае второго спайка оказывается выше амплитуды ПСП, вызываемого первым импульсом. Увеличение результирующих постсинаптических потенциалов происходит с постоянной времени около 250 мс, т. е. сохраняется всего лишь в течение нескольких сот миллисекунд.

В ее основе лежит увеличение квантового выхода (m) благодаря увеличению вероятности высвобождения отдельных квантов (p). Данный тип синаптического облегчения обусловлен «остаточным кальцием» (Katz & Miledi, 1968) — при высокой частоте стимуляции входящие в пресинапти-

ческое волокно ионы кальция не могут быть быстро убраны во внутриклеточные депо. В результате каждый последующий потенциал действия приводит к нарастанию внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Поскольку высвобождение медиатора пропорционально 4-й степени внутриклеточной концентрации кальция, даже незначительный ее прирост вызовет усиление квантового выхода.

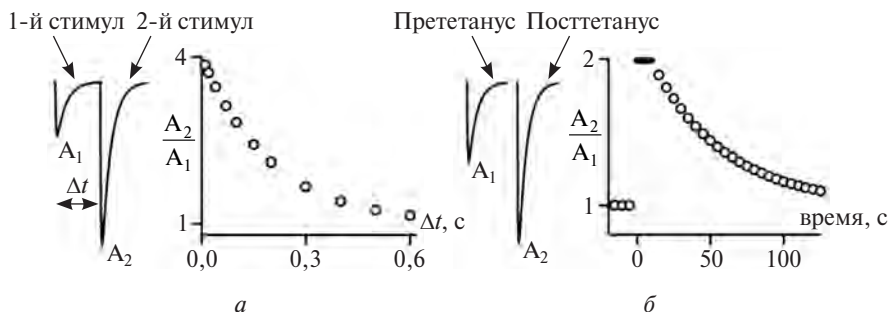


Рис. 250. Синаптическое облегчение (а) и усиление (б) (по Regehr, 2012). Слева от графиков – изменения амплитуды постсинаптического потенциала до (A_1) и после (A_2) стимуляции пресинаптического волокна; Δt – время между стимулами

Для запуска слияния везикул с мембраной требуется достижение определенной внутриклеточной концентрации кальция (local Ca^{2+} , Ca_{local}) – 10–100 мкМ в районах цитоплазмы, примыкающих к кальциевым каналам. После завершения секреции это пространственное скопление ионов кальция в большей своей массе быстро диффундирует в соседние области цитоплазмы, где и связывается с соответствующими белками, а малая часть остается на месте – остаточный кальций (residual Ca^{2+} , Ca_{res}). При соотношении $\text{Ca}_{\text{res}}/\text{Ca}_{\text{local}} = 0,16$ результатом будет двукратное увеличение ответа, так как $A_1 = k(\text{Ca}_{\text{local}})^4$, а $A_2 = k(\text{Ca}_{\text{res}} + \text{Ca}_{\text{local}})^4$, где k – коэффициент (константа). Проблема состоит в том, что для большинства синапсов остаточный кальций составляет всего ~1 % от локального кальция, а следовательно, не более 4 % от величины облегчения может быть объяснено этим механизмом. Вероятно, речь идет о высокоаффинном связывании Ca^{2+} с соответствующими сенсорами (белки активной зоны синапса), когда даже небольших его количеств оказывается достаточно для увеличения квантового выхода.

2. Синаптическое усиление (*augmentation*): отличается от синаптического облегчения тем, что эффект ритмической стимуляции развивается и спадает гораздо медленней, с постоянной времени порядка 5–10 с (Magleby & Zengel, 1976). В основе явления также лежит увеличение квантового выхода медиатора, возможно, обусловленного участием вторичного внутриклеточного посредника, на роль которого претендует все тот же свободный кальций, активирующий протеинкиназу С (РКС).

3. Посттетаническая потенция (ПТП): принципиально не отличается от синаптического облегчения. Она вызывается относительно длинными сериями потенциалов действия. ПТП начинается несколько позже и, достигнув максимума через несколько секунд после окончания стимуляции, сохраняется в течение нескольких десятков минут, вплоть до нескольких часов (рис. 250, б). По всей видимости, она также обусловлена остаточным кальцием. При этом важную роль играет повышение внутриклеточной концентрации Na^+ вследствие высокой частоты генерации потенциала действия на этом участке клетки (фаза деполяризации обусловлена движением ионов натрия внутрь клетки). В результате эффективность $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника снижается (снижается концентрационный градиент для ионов натрия, потенциальная энергия которого обеспечивает удаление ионов кальция из цитоплазмы во внешнюю среду, что способствует поддержанию внутриклеточной концентрации ионов кальция на повышенном уровне). Еще одно возможное объяснение пролонгированного действия посттетанической потенции связано с накоплением Ca^{2+} в митохондриях, высвобождаемых в роли хранилища, принимающего избыточные ионы кальция, накапливаемые в ходе высокочастотной стимуляции. Последующая медленная утечка этих ионов из митохондрий и обуславливает сохранение высокого уровня Ca^{2+} в цитоплазме нервных терминалей на протяжении продолжительного периода времени.

При высокочастотной стимуляции может наблюдаться увеличение длительности потенциала действия, что сохраняет мембрану пресинаптического волокна в состоянии деполяризации более продолжительный период, тем самым увеличивая время открытого состояния потенциалчувствительных кальциевых каналов. Активность целого ряда протеинкиназ (РКС, кальмодулин и кальций/кальмодулин зависимой протеинкиназы II (CaMKII), PKA) определяет развитие ПТП в целом ряде синапсов.

4. Синаптическая депрессия: если количество квантов медиатора, выделяемых под влиянием пачки импульсов, велико, то ритмическая стимуляция приводит к снижению амплитуды ответов постсинаптического нейрона на новые импульсы, возникающие в пресинаптическом нейроне (рис. 249). Синаптическую депрессию можно наблюдать даже в случае парной стимуляции пресинаптической клетки — реакция на второй спайк серии оказывается слабее (рис. 251, а). В этом случае речь идет о высвобождении большей части везикул легко высвобождаемой фракции под влиянием первого стимула, а скорость поставки синаптических пузырьков из рециркулирующей фракции оказывается недостаточной для пополнения запасов везикул в активной зоне к моменту срабатывания второго импульса серии. Кроме того, везикула, сливающаяся с пресинаптической мембраной, на некоторое время (до нескольких секунд) блокирует соединение с ней другого, изначально расположенного дальше от мембраны синаптического пузырька.

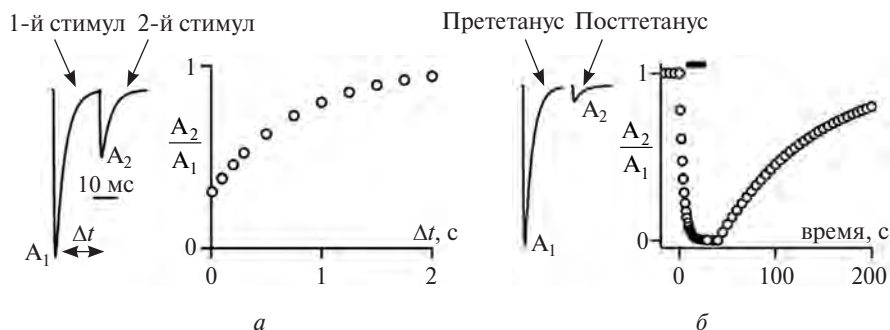


Рис. 251. Короткоживущая (а) и долгоживущая (б) синаптическая депрессия (по Regehr, 2012).

Слева от графиков — изменения амплитуды постсинаптического потенциала до (A_1) и после (A_2) стимуляции пресинаптического волокна;
 Δt — время между стимулами

В случае высокочастотной стимуляции определяющим фактором для развития синаптической депрессии является истощение запаса везикул в пресинаптическом волокне. Однако не исключено, что речь может идти и о нарушении кальциевого гомеостаза — кальмодулин и другие кальций-чувствительные белки (активируемые в случае сильной деполяризации нервного окончания серией импульсов) опосредует инактивацию кальциевых каналов, уменьшая вероятность секрции нейромедиатора.

В случае высокочастотной стимуляции потенциалы действия не доходят до конца самых мелких терминалей аксона, делая невозможным высвобождение из них сигнальной молекулы.

В нервно-мышечных препаратах лягушки синаптическая депрессия может быть обусловлена действием АТФ, выделяемого в качестве котрансмиттера вместе с ацетилхолином и реализующего свое тормозное действие за счет активации соответствующих пресинаптических рецепторов (Redman & Silinsky, 1994). Изменение характеристик постсинаптической клетки (изменение числа рецепторов, их сенситизация или десенситизация) сказывается на развитии *всех видов* кратковременных изменений эффективности синаптической передачи.

В одном и том же синапсе может существовать несколько типов изменений эффективности передачи сигнала.

Долговременные изменения обусловлены ритмической активностью преимущественно центральных нейронов. В настоящее время выделяют несколько типов долговременных изменений.

1. **Долговременная потенцияция, ДВП** (*long-term potentiation, LTP*): впервые была описана применительно к нейронам гиппокампа Т. Блиссом и Т. Ломо (Bliss & Lomo, 1973). В результате высокочастотной стимуляции наблюдалось значительное увеличение синаптических ответов, длящееся часы и даже дни. В случаях если ДВП обусловлена стимуляцией одного входа, говорят о *гомосинаптической* ДВП, если двух входов — *ассоциативной* ДВП.

В механизме развития ДВП существенную роль играют пресинаптическая, т. е. увеличение квантового выхода, и постсинаптическая, т. е. увеличение ответа на каждый квант, составляющие. При этом главная роль отводится возрастанию концентрации ионов кальция в постсинаптическом нейроне, поступающих в клетку вследствие активации глутаматергических NMDA-рецепторов. Выступая в роли вторичного посредника, Ca^{2+} активирует целый ряд биохимических путей внутри клетки (CaMKII), вызывая в итоге появление новых рецепторов к глутамату (AMPA-рецепторы) на постсинаптической мембране, что приводит к выраженному усилению эффекта пресинаптической стимуляции (рис. 252, б).

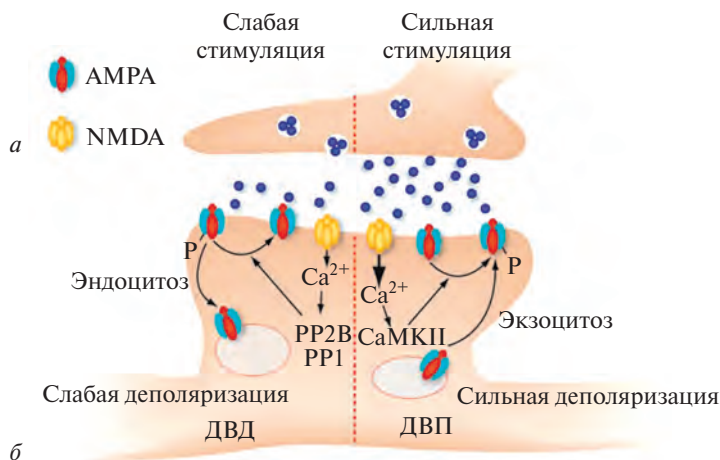
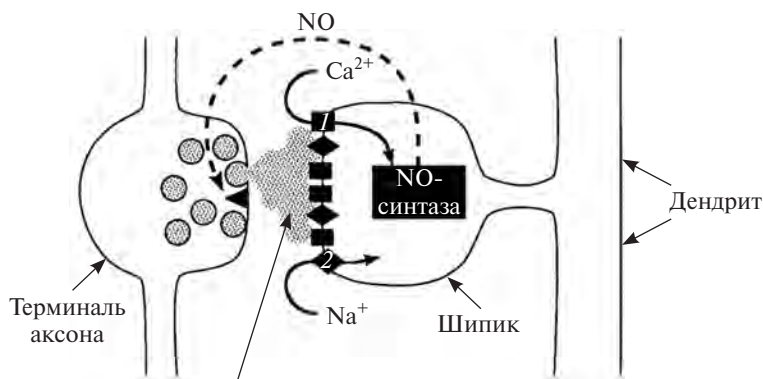


Рис. 252. Схема событий в постсинаптическом нейроне при развитии долговременной депрессии (а) и потенциации (б) (по Lüscher & Malenka, 2012)

Пресинаптическая компонента, вызывающая увеличение квантового выхода, предполагает наличие *ретроградного* передатчика, на роль которого традиционно претендует монооксид азота (NO) или монооксид углерода (CO). Изначально вход Ca^{2+} через канал NMDA рецептора активирует NO-синтазу и последующий синтез NO. Диффундируя и достигая

пресинаптической терминали, газообразный нейромодулятор увеличивает секрецию нейромедиатора, повышая эффективность синаптической передачи (рис. 253).



Выход глутамата активирует NMDA- и неNMDA-рецепторы

Рис. 253. Ретроградная передача сигнала с использованием газообразного нейромодулятора (по Stevens, 1993):
1 – NMDA-рецепторы; 2 – неNMDA-рецептор

2. **Долговременная депрессия, ДВД (*long-term depression, LTD*)**: представляет собой длительное угнетение синаптической передачи, вызванной предшествующей низкочастотной ритмической активностью этого же входа (*гомосинаптическая ДВД*). В случае *гетеросинаптической ДВД* снижение синаптической эффективности обусловлено предшествующей тетанической активностью в другом, рядом расположенном афферентном входе к этой же клетке, а при *ассоциативной ДВД* – при совпадающей по времени низко- и высокочастотной стимуляции двух соседних входов (угнетение низкочастотного входа).

В настоящее время развитие ДВД (см. рис. 250, а) связывают с возрастанием уровня кальция в постсинаптическом нейроне, обусловленного его поступлением в результате активации NMDA-рецепторов, а в случае их отсутствия – через потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы. При этом возрастание внутриклеточной концентрации кальция не столь выражено, как при развитии ДВП. Наблюдаемая при этом активация фосфатаз (PP1, PP2B) приводит к дефосфорилированию AMPA-рецепторов, а следовательно, к их эндоцитозу и итоговому снижению количества на постсинаптической мембране, ослабляя эффективность синаптической передачи.

Долговременные изменения предполагают CREB-зависимую активацию под влиянием целого спектра протеинкиназ цитозоля, экспрессии генов как на уровне пре-, так и постсинаптического нейрона (рис. 254).

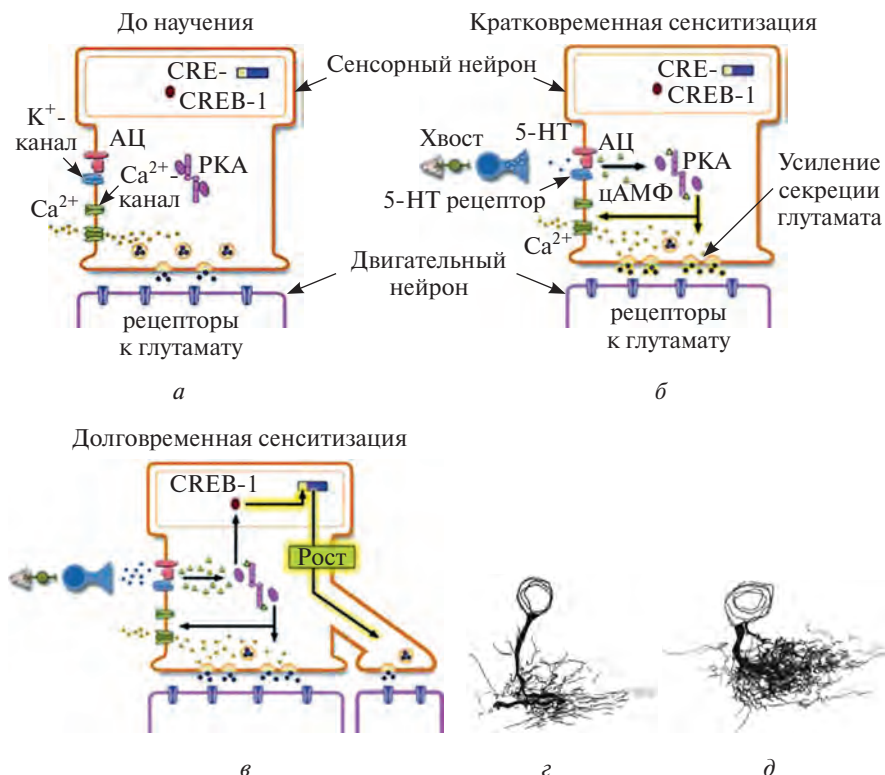


Рис. 254. Изменения эффективности синаптической передачи в нервной системе моллюска *Aplysia* при обучении (сенситизация рефлекса втягивания жабры):

а — до обучения; б — после обучения (кратковременные изменения — пресинаптическое облегчение); в — после обучения (долговременные изменения, вызываемые CREB-зависимой активацией генов и последующим формированием новых терминалей аксона); г — морфология отростков сенсорного нейрона до обучения; д — она же после обучения. Изменения, происходящие на уровне постсинаптической клетки (двигательного нейрона), не указаны;
а–в — по Mayford e. a., 2012; г–д — по Bailey e. a., 2015

Результатом последующей модификации белкового синтеза могут быть как мелкие локальные изменения содержания тех или иных структурных компонентов клетки (например, рецепторов или других белков постсинаптической плотности), так и крупные морфологические перестройки, связанные с формированием дополнительных терминалей аксона (его ветвлением) с новыми сайтами высвобождения медиатора, что еще больше закрепляет достигнутый эффект в отношении эффективности синаптической передачи сигнала.

4.3.3. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЭЛЕКТРОТОНИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ

В основе модификации проводимости электрического синапса лежат конформационные изменения белков щелевого контакта (коннексонов или иннексонов), предопределяющие количество переносимых зарядов через область такого соединения (рис. 255).

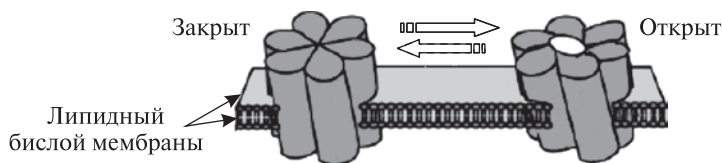


Рис. 255. Схема взаимных переходов (стрелки) коннексона из закрытого состояния в открытое (по Perkins e. a., 1998)

Изменения проводимости или вероятности открытия/закрытия коннексонов объясняют **быструю динамическую регуляцию** электрического синапса. Известно о существовании нескольких механизмов ее обеспечения:

- *потенциал-управляемость (voltage-gating)* — требует наименьших временных затрат.

Состояние канала щелевого контакта (открыт — закрыт) зависит от напряжения на мембране. Именно существующие различия в чувствительности коннексонов к напряжению (для гетеротипических соединений) определяют выпрямляющие свойства электрических синапсов (см. подразд. 2.3) — каждый полуканал соединения самостоятелен в своей потенциалчувствительности. Следует различать:

- чувствительность коннексонов к трансмембранной разности потенциалов (V_m);

- чувствительность к трансконтактному напряжению (разности потенциалов по разные стороны от контакта, V_j).

Последнюю следует рассматривать как уникальное свойство каналов щелевого контакта — все известные коннексоны и иннексоны демонстрируют чувствительность к V_j , хотя в ряде случаев ответ может быть невелик и/или не иметь физиологического значения. Каждый белок щелевого контакта (коннексин или иннексин) характеризуется только ему одному присущей временной зависимостью нахождения в том или ином конформационном состоянии и зависимостью от напряжения;

В основе неспецифического ингибирующего действия длинноцепочечных спиртов на проводимость щелевого контакта лежит модификация потенциалчувствительности коннексонов, реализуемая за счет липофильных свойств этих спиртов.

- *фосфорилирование белков контакта* — характерно для большинства представителей семейств коннексинов и иннексинов, протекает при участии ряда протеинкиназ (РКА, РКС, MAPK, cdc2 киназа и др.). Реализуемые при этом изменения конформации определяют проводимость щелевого контакта.

Уже первые исследования свойств щелевых контактов, проведенные в 60-х гг. XX века, выявили регуляторную роль ионов кальция — возрастание уровня Ca^{2+} в цитоплазме приводит к разобщению клеток, связанных посредством электрического синапса. Излишне напоминать, что действие ионов кальция может быть реализовано и за счет активации Ca^{2+} -зависимых протеинкиназ (CaM-киназ);

Возрастание внутриклеточной концентрации Ca^{2+} является одним из маркеров будущей гибели клетки в ходе некроза и/или апоптоза. Тем самым блокада межклеточной коммуникации, использующей неспецифические пути передачи информации по каналам щелевого соединения, позволяет «досрочно» изолировать такую клетку от ее ближайшего окружения (разобщить клетки), предотвратив массовую гибель нейронов в пределах кластера.

- *прямое изменение конформации белков контакта* — наблюдается под влиянием общебиологических факторов, относимых к неспецифическим экстрасинаптическим воздействиям (температура, pH, свободные радикалы), а также под действием внутриклеточных регуляторов, таких как цАМФ и/или цГМФ.

Ацидофикация цитоплазмы вызывает закрытие каналов щелевого соединения за счет конформационных изменений их внутриклеточных доменов — С-концевого участка или цитоплазматической петли (протонирование белков канала). Чувствительность к нарушениям кислотно-основного равновесия в интерстиции ниже по сравнению со сдвигами pH цитоплазмы. Повышение температуры приводит к падению степени сопряжения электрически связанных клеток, равно как и возрастание свободно-радикальной нагрузки (рис. 256), что свидетельствует о модификации свойств щелевых контактов факторами объемной передачи сигнала.

Медленная динамическая регуляция электрического синапса связана с изменением числа компонентов щелевого контакта (коннексонов) в участках соприкосновения клеток (рис. 257).

Встраивание белков щелевого контакта в мембрану — это многоступенчатый процесс, каждый этап которого связан с активностью различных протеинкиназ, а их распад (деградация) является следствием убиквитинизации коннексинов с последующим разрушением меченных таким образом белков в специализированных органеллах клетки. Ускоряя (замедляя) ход синтеза (деградации) полуканалов, можно эффективно изменять их число в области контата, модифицируя суммарную проводимость такого соединения, т. е. изменять его эффективность.

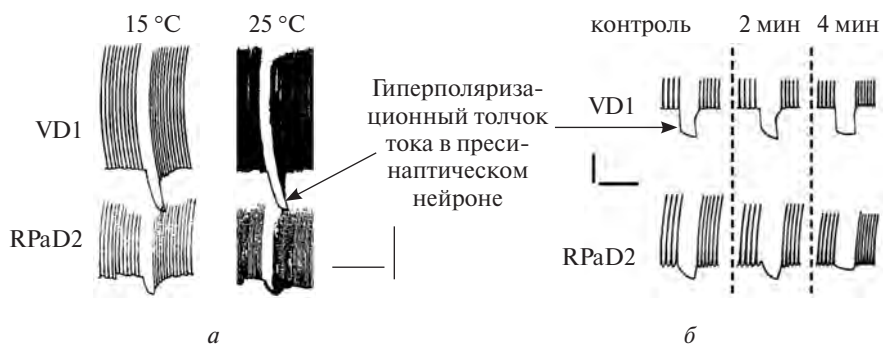


Рис. 256. Влияние температуры (а) и пероксида водорода (б) на электротоническую передачу между нейронами VD1 и RPaD2 в нервной системе *Lymnaea stagnalis* (по Sidorov, 2001, 2012).

Толчки тока в VD1, распространяясь электротонически, вызывают гиперполяризацию в постсинаптическом нейроне RPaD2, степень которой изменяется в зависимости от температуры или присутствия активных форм кислорода (через 2 или 4 мин после добавления пероксида водорода).

Калибровка: по времени — 20 и 5 с для а и б, по амплитуде — 50 и 10 (20) мВ для а и б

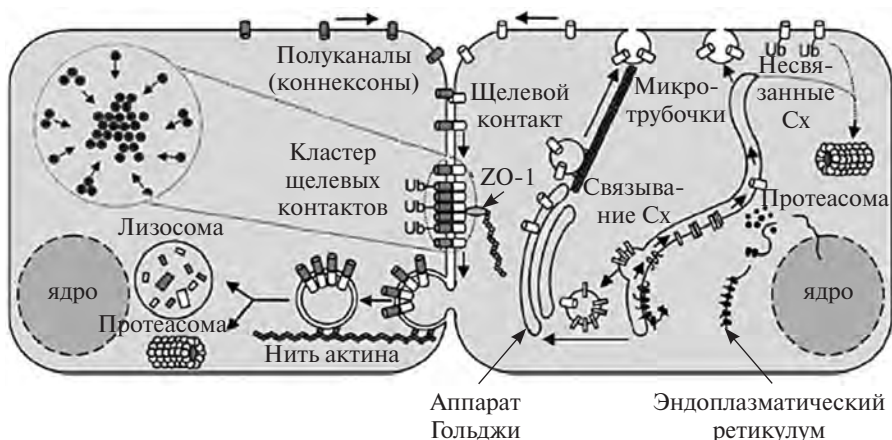


Рис. 257. Пути образования и деградации коннексонов (по Saez e. a., 2003). Стрелки указывают направления перемещения коннексонов. Ub — убиквитин

Следует отметить, что модификация проводящих свойств коннексонов под влиянием различных внутриклеточных регуляторов лежит в основе взаимодействия химических и электрических синапсов — наработка вто-

ричных посредников, реализующих свое действие за счет активации различных протеинкиназ, мишенями для которых служат и белки щелевых контактов, является неотъемлемой составляющей связывания лигандов (нейромедиаторов) с рецепторами, сопряженными с G-белками. С другой стороны, распространение метаболических сигналов по системе щелевых контактов (рис. 258) приводит к модуляции свойств клеток, участвующих в формировании химических синаптических соединений.

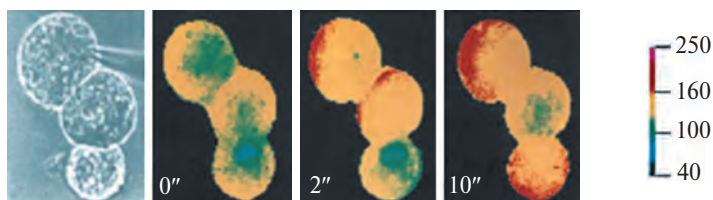


Рис. 258. Временной ход кальциевой волны, вызванной внутриклеточным введением инозитолтрифосфата в культуре клеток, связанных посредством щелевого контакта (по Saez e. a., 2003).

Инъекция инозитолтрифосфата проведена в верхнюю клетку триплета (слева, фазово-контрастная микроскопия).

Смещение в сторону красного свечения отражает возрастание уровня Ca^{2+} в цитоплазме (флуоресцентная микроскопия)

Коннексоны (иннексоны) могут осуществлять трансмембранный перенос АТФ и глутамата в случае отсутствия сопряженности с гомологичными им структурами в мембране соседних клеток, функционируя в виде полуканала щелевого контакта по аналогии с каналами, образованными паннексинами. Их переход в открытое состояние происходит под действием механических сил (растяжение), сильной деполяризации или при снижении уровня Са.

Таким образом, электротонические синапсы наравне с химическими синапсами участвуют в функциональных перестройках нейронных сетей организма.

ПОСЛЕСЛОВИЕ

Достижения нейроморфологии и нейрофизиологии существенно расширили наши представления о строении и функциях нервной системы. Раскрытие тонких, клеточных и молекулярных, механизмов передачи сигналов между нервными клетками, установление закономерностей их изменения в ходе научения еще больше приближают нас к пониманию основополагающих принципов работы мозга, по крайней мере относительно просто устроенных его частей (рефлекторные дуги, локальные нейронные сети).

Вместе с тем нельзя не отметить существование фундаментального вопроса, ответ на который еще предстоит получить, если это окажется в принципе возможным: как соотносится сознание и нервная деятельность? Очевидно, что наши ощущения, мысли, эмоции связаны с активностью нервных клеток, о чем убедительно свидетельствуют данные функциональной магнитно-резонансной томографии мозга. Каким образом события, характеризующие работу нейронов и синапсов, вызывают к жизни отмеченные феномены, т. е. делают человека человеком, как это весьма символически заметили художники эпохи Возрождения¹?



Похожи,
не так ли?

«Сотворение Адама» — фреска Микеланджело (часть росписи потолка Сикстинской капеллы Ватикана) и сагиттальный разрез головного мозга человека

¹Эту идею автор услышал в одном из выступлений профессора Т. Фрейнда (Tamás F. Freund), директора Института экспериментальной медицины Венгерской академии наук (возглавившего ее в 2020 г.), одного из ведущих специалистов в мире по функциональной архитектуре и физиологии нейронных сетей коры головного мозга.

Психофизиологическая проблема — далеко не единственная в поле интересов перед исследователями мозга. Это верхушка айсберга, сегодня нам если и доступно полное детальное клеточное описание мозга какого-либо животного, то речь идет об относительно небольших (в количественном плане) нервных системах. При этом характер взаимодействия между *всеми* клетками такого мозга в тот или иной момент при реализации той или иной поведенческой программы практически не поддается исследованию.

В этом отношении крайне перспективны методики регистрации активности нейронов, основанные на использовании потенциалчувствительных красителей, позволяющие вести одновременный мониторинг работы всех клеток сети и даже всего мозга. Возможно, именно они позволят получить сведения, расширяющие наши представления об интегративной функции нервной системы. Перспективы в изучении физиологии нервных клеток на молекулярном уровне связаны с широким использованием методов геномики и протеомики. Анализ экспрессии генов в определенный момент времени, характеристика белкового содержимого внутриклеточных доменов и т. п. позволяют говорить о динамической оценке поведения нейронов и глии как в относительно стационарном (взрослом) состоянии, так и в ходе различных этапов онтогенеза, когда темп изменений достаточно высок, а сами они приводят к качественным изменениям мозговых функций (созревание и/или старение).

Хотелось бы выразить уверенность, что, несмотря на всю сложность интегративной деятельности мозга, знание физиологии нервных клеток будет полезно не только специалистам, связавшим свою судьбу с изучением мозга и поведения, но и людям, нашедшим свои интересы в других областях естествознания. Организация нервных процессов — всего лишь одно из проявлений жизни — бесконечного (в философском смысле) и прекрасного события, таящего в себе как множество загадок, так и доставляющего радость ответов на них.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

- Гилберт С.* Биология развития : в 3 т. М. : Мир, 1993—1994.
- Дондуа А. К.* Биология развития в 2 т. СПб. : СПбГУ, 2005.
- Кэндел Э.* Клеточные основы поведения. М. : Мир, 1980.
- Маломуж А. И., Никольский Е. Е.* Неквантовое освобождение медиатора: миф или реальность? // Успехи физиологических наук. 2010. Т. 41, № 2. С. 27—43.
- Николс Дж. Г.*: От нейрона к мозгу. М. : Едиториал УРСС, 2003.
- Проссер Л.* Центральная нервная система // Сравнительная физиология животных : в 3 т. М. : Мир, 1977. Т. 3. С. 5—163.
- Сидоров А. В.* Физиология межклеточной коммуникации. Минск : БГУ, 2008.
- Сидоров А. В.* Основы нейробиологии. Клетки и контакты нервной ткани. Минск : БГУ, 2019.
- Сидоров А. В.* Функциональная активность нервных центров беспозвоночных. Минск : БГУ, 2011.
- Учизоно К.* Возбуждение и торможение. Морфология синапсов. Киев : Наук. думка, 1980.
- Шаде Дж., Форд Д.* Основы неврологии. М. : Мир, 1976.
- Шмальгаузен И. И.* Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. М. ; Л. : АН СССР, 1938.
- Bailey C. H., Kandel E. R., Harris K. M.* Structural Components of Synaptic Plasticity and Memory Consolidation // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2015. Vol. 7(7). a021758.
- Balinsky B. I.* Introduction to Embryology. Philadelphia ; London ; Toronto : W. B. Saunders, 1975.
- Basak S. e. a.*: Cryo-EM structure of 5-HT_{3A} receptor in its resting conformation / S. Basak [e. a.] // Nature communications. 2018. Vol. 9(1). P. 514.
- Bayraktar O. A. e. a.*: Astrocyte development and heterogeneity / O. A. Bayraktar [e. a.] // Cold Spring Harb Perspect Biol. 2014. Vol. 7(1). a020362.
- Bentivoglio M. e. a.*: The Original Histological Slides of Camillo Golgi and His Discoveries on Neuronal Structure / M. Bentivoglio [e. a.] // Front. Neuroanat. 2019;3.
- Bentivoglio M.* Camillo Golgi [Electronic resource] // NobelPrize.org. Nobel Media AB 2019. 2019. URL: [http:// www.nobelprize.org/prizes/medicine/1906/golgi/article](http://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1906/golgi/article) (date of access: 25.08.2019).
- Bettler B. e. a.*: Molecular structure and physiological functions of GABA_B receptors / B. Bettler [e. a.] // Physiol. Rev. 2004. Vol. 84. P. 835—867.
- Bezanilla F.* The voltage sensor in voltage-dependent ion channels // Physiol. Rev. 2000. Vol. 80. P. 555—592.

Birks R., MacIntosh F. Acetylcholine metabolism of a sympathetic ganglion // *Canad. J. Biochem.* 1961. Vol. 39. P. 787–827.

Bowery N. G., Enna S. J. γ -Aminobutyric acidB receptors: first of the functional metabotropic heterodimers // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2000. Vol. 292. P. 2–7.

Browne L. E. Structure of P2X receptors // *WIREs Membr. Transp. Signal.* 2012. Vol. 1. P. 56–69.

Burnside B. Microtubules and microfilaments in newt neurulation // *Dev. Biol.* 1971. Vol. 26. P. 416–441.

Byrne J. H., Hawkins, R. D. Nonassociative learning in invertebrates // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015. Vol. 7(5). a021675.

Castillo P. E. Presynaptic LTP and LTD of excitatory and inhibitory synapses. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. Vol. 4(2). a005728.

Chung W.-S., Allen N. J., Eroglu C. Astrocytes control synapse formation, function, and elimination // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2015. Vol. 7. a020370.

Crelin E. S. Development of the nervous system: a logic approach to neuroanatomy // *Ciba Clin. Symp.* 1974. Vol. 26. P. 2–32.

Daneman R., Prat A. The blood-brain barrier. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2015. Vol. 7(1). a020412.

D'Angelo E., Casali S. Seeking a unified framework for cerebellar function and dysfunction: from circuit operations to cognition // *Frontiers in neural circuits.* 2013. Vol. 6. P. 116.

Danysz W., Parsons C. G. Glycine and N-Methyl-D-Aspartate receptors: physiological significance and possible therapeutic applications // *Pharmacol. Rev.* 1998. Vol.50. P. 597–664.

De Lorenzo A. J. The fine structure of synapses in the ciliary ganglion of the chick // *J. Biophysic. Biochem. Cytol.* 1960. Vol. 7. P. 31–36.

De Robertis E. M. e. a. : Molecular mechanisms of cell-cell signaling by the Spemann-Mangold organizer / E. M. de Robertis [e. a.] // *Int. J. Dev. Biol.* 2001. Vol. 45. P. 189–197.

Delva E., Tucker D. K., Kowalczyk A. P. The Desmosome // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009. Vol. 1. a002543.

Doyle D. A. e. a. : The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity / D. A. Doyle [e. a.] // *Science.* 1998. Vol. 280. P. 69–76.

Dudel J. The mechanism of presynaptic inhibition at the crayfish neuromuscular junction // *Pflugers Arch.* 1965. Vol. 248. P. 66–80.

El Aisati M., Borner K., Zoss A. M. Genealogy of Science According to Scopus [Electronic resource] // *Wired Magazine*, March 8, 2011. URL: <https://www.wired.com/2011/03/best-science-maps> (data of access 19.10.2010).

Fu D., Lu M. The structural basis of water permeation and proton exclusion in aquaporins // *Mol Membr Biol.* 2007. Vol. 24 (5–6). P. 366–374.

Furuse M. Molecular Basis of the Core Structure of Tight Junctions // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2010. Vol. 2. a002907.

Goodenough D. A., Paul D. L. Gap junctions. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009. Vol. 1(1):a002576.

Grillner S. Biological pattern generation: the cellular and computational logic of networks in motion // *Neuron.* 2006. Vol. 52. P. 751–766.

Guthrie P. B. e. a.: Self-recognition: a constraint on the formation of electrical coupling in neurons P. B. Guthrie [e. a.] // *J. Neurosci.* 1994. Vol. 14. P. 1477–1485.

Hall Z. W., Sanes J. R. Synaptic structure and development: the neuromuscular junction // *Cell.* 1993. Vol. 72. P. 99–121.

Hamlyn L. H. An electron microscope study of pyramidal neurons in the Ammon's Horn of the rabbit // *J. Anat. (L.)* 1963. Vol. 97. Pt 2. P. 189–201.

Heldin C. H. e. a.: Signals and Receptors / C. H. Heldin [e. a.] // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016. Vol. 8(4). a005900.

High B. e. a.: Electron microscopic tomography reveals discrete transcleft elements at excitatory and inhibitory synapses / B. High [e. a.] // *Front. Synaptic. Neurosci.* 2015. Vol. 7. Article 9.

Hill M. UNSW Embryology [Electronic resource] // *UNSW Embryology.* 2011. URL: <http://php.med.unsw.edu.au/embryology>. (date of access: 15.09.2012).

Huettnner A. F. Fundamental of comparative embryology of the Vertebrates. New York : Macmillan, 1949.

Ikura M. e. a.: Solution structure of a calmodulin-target peptide complex by multidimensional NMR / M. Ikura [e. a.] // *Science.* 1992. Vol. 256(5057). P. 632–638.

Ji T. H., Grossmann M., Ji I. G protein-coupled receptors // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 17299–17302.

Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessel T. M. Principles of neural science. New York : McGraw-Hill, 2000.

Kopsch von F. Lehrbuch und Atlas der Anatomie des Menschen. Leipzig : Georg Thieme Verlag, 1930.

LoGiudice L., Matthews G. The Role of Ribbons at Sensory Synapses // *Neuroscientist.* 2009. Vol. 15(4). P. 380–391.

Lucić V. e. a.: Morphological Characterization of Molecular Complexes Present in the Synaptic Cleft / V. Lucić [e. a.] // *Structure.* 2005. Vol. 13. P. 423–434.

Lüscher C., Malenka R. C. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD) // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 2012. Vol. 4(6). a005710.

Lynch J. W. Molecular structure and function of the glycine receptor chloride channel // *Physiol. Rev.* 2004. Vol. 84. P. 1051–1095.

Maeda S. e. a.: Structure of the connexin 26 gap junction channel at 3.5 Å resolution / S. Maeda [e. a.] // *Nature.* Vol. 458. P. 597–602.

Mann I. The development of the human eye. New York : Grune & Stratton, 1964.

Marban E., Yamagishi T., Tomaselli G. Structure and function of voltage-gated sodium channels // *J. Physiol.* 1998. Vol. 508 (3). P. 647–657.

Marder E., Bucher D. Central pattern generators and the control of rhythmic movements // *Curr. Biol.* 2001. Vol. 11. P. R986–R996.

Marder E. e. a.: Invertebrate central pattern generation moves along / E. Marder [e. a.] // *Curr. Biol.* 2005. Vol. 15. P. R685–R699.

Martin A. R., Pilar G. Dual mode of synaptic transmission in the avian ciliary ganglion // *J. Physiol. (L.).* 1963. Vol. 168. P. 443–463.

Mayford M., Siegelbaum S. A., Kandel E. R. Synapses and memory storage // *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2012. Vol. 4(6). a005751.

Meng W., Takeichi M. Adherens junction: molecular architecture and regulation // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2009. Vol. 1. a002899.

Miyazawa A., Fujioshi Y., Unwin N. Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore // Nature. 2003. Vol. 423. P. 949–955.

Morth J. P. e. a.: Crystal structure of the sodium-potassium pump / J. P. Morth [e. a.] // Nature. 2007. Vol. 450 (7172). P. 1043–1049.

Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical / ed. by D. W. Pfaff, N. D. Volkow. 2nd ed. Springer New York, 2016.

Neurotransmitters, Drugs and Brain Function / ed. R. A. Webster. Chichester : J. Wiley and Sons Ltd., 2001.

Newton A. C., Bootman M. D., Scott J. D. Second Messengers // Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2016. Vol. 8(8). a005926.

Orr-Weaver T. L. When bigger is better: the role of polyploidy in organogenesis // Trends Genet. 2015. Vol. 6. P. 307–315.

Oshima A. e. a.: Hexadecameric structure of an invertebrate gap junction channel / A. Oshima [e. a.] // J. Mol. Biol. 2016. Vol. 428. P. 1227–1236.

Peracchia C. Low resistance junctions in crayfish. I. Two Arrays of Globules in Junctional Membranes // J. Cell Biol. 1973. Vol. 57(1). P. 54–65.

Pereda A. E. e. a.: Gap junction-mediated electrical transmission: Regulatory mechanisms and plasticity open archive / A. E. Pereda [e. a.] // Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes. 2013. Vol. 1828, Issue 1 P. 134–146.

Perkins G. A., Goodenough D. A., Sosinsky G. E. Formation of the gap junction intercellular channel requires a 30 degree rotation for interdigitating two apposing connexons // J. Mol. Biol. 1998. Vol. 277. P. 171–177.

Ralevic V., Burnstock G. Receptors for purines and pyrimidines // Pharmacol. Rev. 1998. Vol. 50. P. 413–492.

Rash J. E. e. a.: Mixed synapses discovered and mapped throughout mammalian spinal cord / J. E. Rash [e. a.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. Vol. 93(9). P. 4235–4239.

Regehr W. G. Short-term presynaptic plasticity. Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 2012Vol. 4(7). a005702.

Retzlaff E. J. Neurohistological basis for the functioning of paired half-centres // Comp. Neurol. 1954. Vol. 101. P. 407–445.

Risher W. C. Rapid Golgi analysis method for efficient and unbiased classification of dendritic spines / W. C. Risher // PLoS One. 2014. Vol. 9 (9). e107591.

Rizzoli S. O., Betz W. J. Synaptic vesicle pools // Nat. Rev. Neurosci. 2005. Vol. 6(1). P. 57–69.

Robertson J. D. The ultrastructure of a reptilian myoneural junction // J. Biophysic. Biochem. Cytol. 1956. Vol. 2 P. 381–394.

Sabbatini R. M. E. Neurons and Synapses [Electronic resource] // The History of Its Discovery. 2019. URL: https://cerebromente.org.br/n17/history/neurons1_i.htm. (date of access: 25.08.2019).

Saez J. C. Plasma membrane channels formed by connexins: their regulation and functions / J. C. Saez // Physiol. Rev. 2003. Vol. 83. P. 1359–1400.

Sanes D., Reh T. A., Harris W. A. Development of the nervous system. Burlington, MA : Elsevier Academic Press, 2006.

Saxen L., Toivonen S. Embryonic induction. New Jersey : Prentice-Hall. Englewood Cliffs, 1962.

Scemes E., Spray D. C., Meda P. Connexins, pannexins, innexins: novel roles of «hemi-channels» // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 2009. Vol. 457. P. 1207–1226.

Shieh C-C. e. a.: Potassium channels: molecular defects, diseases, and therapeutic opportunities / C-C. Shieh [e. a.] // *Pharmacol. Rev.* 2000. Vol. 52. P. 557–593.

Sidorov A. V. Effect of hydrogen peroxide on electrical coupling between identified Lymnaea neurons // *Invert. Neurosci.* 2012. Vol. 12, № 1. P. 63–68.

Sidorov A. V. Effect of temperature on synaptic transmission between identified neurones of the mollusc Lymnaea stagnalis // *Neurosci. Lett.* 2002. Vol. 333. P. 1–4.

Sidorov A. V., Kazakevich V. B. Electrical coupling between identified Lymnaea neurons: Nitric monoxide and temperature action // *Protein Modules in Cellular Signalling. NATO Science Series: Life Sciences* / ed. L. Heilmeyer, P. Friedrich. 2001. Vol. 318. P. 150–153.

Slade C. T., Mills J., Winlow W. The neuronal organization of the paired pedal ganglia of Lymnaea stagnalis (L.) // *Comp. Biochem. Physiol.* 1981. Vol. 69A. P. 789–803.

Spacek J. Atlas of Ultrastructural Neurocytology [Electronic resource] // *Atlas of Ultrastructural Neurocytology*. 2018. URL: <http://synapseweb.clm.utexas.edu/atlas>. (date of access: 15.11.2018).

Spafford J. D., Zamponi G. W. Functional interactions between presynaptic calcium channels and the neurotransmitter release machinery // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2003. Vol. 13. P. 308–314.

Stauffer K. A. e. a.: Isolation and purification of gap junction channels / K. A. Stauffer [e. a.] // *J. Cell Biol.* 1991. Vol. 115. P. 141–150.

Stevens C. F. Quantal release of neurotransmitter and long-term potentiation // *Cell*. 1993. Vol. 72. Neuron 10 (suppl). P. 55–63.

Südhof T. C., Rizo J. Synaptic vesicle exocytosis // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011. Vol. 3(12). a005637.

Sykova E. Extrasynaptic volume transmission and diffusion parameters of the extracellular space // *Neuroscience*. 2004. Vol. 129. P. 861–876.

Syrovatkina V. e. a.: Regulation, Signaling, and Physiological Functions of G-Proteins / V. Syrovatkina [e. a.] // *J Mol Biol.* 2016. Vol. 428(19). P. 3850–3868.

Traynelis S. F. e. a.: Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function / S. F. Traynelis [e. a.] // *Pharmacol. Rev.*, 2010. Vol. 62(3). P. 405–496.

Van De Graaff, K. M. Human Anatomy. McGraw-Hill Companies, 2002.

von Bohlen und Halbach O., Dermietzel R. Neurotransmitters and Neuromodulators. Darmstadt : Wiley-VCH Verlag GmbH Weinheim, 2002.

Wang B. e. a.: Immunoelectron microscopic study of glutamate inputs from the retrosplenial granular cortex to identified thalamocortical projection neurons in the anterior thalamus of the rat/ B. Wang [e. a.] // *Brain Res. Bull.* 1999. Vol. 50. P. 63–76.

Yamada M., Inanobe A., Kurachi Y. G protein regulation of potassium ion channels // *Pharmacol. Rev.* 1998. Vol. 50. P. 723–757.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основной

- Николс, Дж. Г.* От нейрона к мозгу / Дж. Г. Николс [и др.]. — М. : Либроком, 2012.
- Hammond, C.* Cellular and Molecular Neurobiology / C. Hammond. — Academic Press, 2001.
- Kandel, E. R.* Principles of neural science / E. R. Kandel [et al.]. — McGraw-Hill Education : Medical, 2012.
- Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical / ed. by D. W. Pfaff, N. D. Volkow — 2nd ed. — New York : Springer, 2016.
- Spacek, J.* Atlas of Ultrastructural Neurocytology / J. Spacek // Atlas of Ultrastructural Neurocytology [Electronic resource]. — 2018. — Mode of access: <http://synapseweb.clm.utexas.edu/atlas/>. — Date of access: 15.11.2018.

Дополнительный

- Алмазов, И. В.* Атлас по гистологии и эмбриологии / И. В. Алмазов, Л. С. Сутулов. — М. : Медицина, 1978.
- Анохин, П. К.* Биология и нейрофизиология условного рефлекса / П. К. Анохин. — М. : Медицина, 1968.
- Базисная и клиническая фармакология : в 2 т. / под ред. Б. Г. Катцунг. — М. ; СПб. : Бином-Нев. диалект, 2000. — т. 2.
- Батуев, А. С.* Нейрофизиология коры головного мозга / А. С. Батуев. — Л. : Ленинград. ун-т, 1984.
- Кати, Б.* Нерв, мышца и синапс / Б. Катц. — М. : Мир, 1969.
- Костюк, П. Г.* Механизмы электрической возбудимости нервной ткани / П. Г. Костюк, О. А. Крыштал. М. : Наука, 1981. — 204 с.
- Костюк, П. Г.* Физиология центральной нервной системы / П. Г. Костюк. — Киев : Вищ. шк., 1977.
- Кэндел, Э.* Клеточные основы поведения / Э. Кэндел. — М. : Мир, 1980.
- Пёрвис, Р.* Микроэлектродные методы внутриклеточной регистрации и ионифореза / Р. Пёрвис. — М. : Мир, 1983.
- Поляков, Г. И.* О принципах нейронной организации мозга / Г. И. Поляков. — М. : МГУ, 1965.
- Привес, М. Г.* Анатомия человека / М. Г. Привес, Н. К. Лысенков, В. И. Бушкович. — СПб. : Диля, 1998.

- Сахаров, Д. А. Генеалогия нейронов / Д. А. Сахаров. — М. : Наука, 1973.
- Сидоров, А. В. Основы нейробиологии. Клетки и контакты нервной ткани / А. В. Сидоров. — Минск : БГУ, 2019.
- Сидоров, А. В. Функциональная активность нервных центров беспозвоночных / А. В. Сидоров. — Минск : БГУ, 2011.
- Сравнительная физиология животных : в 3 т. / под ред. Л. Проссера. — М. : Мир, 1977.
- Физиология человека : в 3 т. : пер. с англ. / под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. — 2-е изд., доп. и перераб. — М. : Мир, 1996. — 3 т.
- Хем, А. Гистология : в 5 т. / А. Хем, Д. Кормак ; пер. с англ. М. Л. Калецкой ; под ред. Ю. И. Афанасьева, Ю. С. Ченцова. — М. : Мир, 1982–1983.
- Ходжкин, А. Нервный импульс / А. Ходжкин ; пер. с англ. Л. М. Цофиной ; под ред. Е. А. Либермана. — М. : Мир, 1965.
- Хухо, Ф. Нейрохимия: основы и принципы / Ф. Хухо. — М. : Мир, 1990.
- Шаде, Дж. Основы неврологии / Дж. Шаде, Д. Форд ; пер. с англ. Н. Д. Викторовой, И. В. Викторова. — М. : Мир, 1976.
- Шмидт-Нильсен, К. Физиология животных: приспособление и среда : в 2 кн. / К. Шмидт-Нильсен ; под ред. Е. М. Крепса. — М. : Мир, 1982.
- Экклс, Дж. Физиология нервных клеток : пер. с англ. / Дж. Экклс. — М. : Изд-во иностр. лит., 1959.
- Экклс, Дж. Физиология синапсов : пер. с англ. / Дж. Экклс. — М. : Мир, 1966.
- Alberts, B. Essential cell biology / B. Alberts [et al.]. — New York ; London : Garland Publishing Inc., 1998.
- Bohlen und Halbach, O. von. Neurotransmitters and Neuromodulators / O. von Bohlen und Halbach, R. Dermietzel. — Darmstadt : Wiley-VCH Verlag GmbH Weinheim, 2002.
- Eccles, J. C. The Cerebellum as a Neuronal Machine / J. C. Eccles, M. Ito, J. Szentagothai. — Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1967.
- Gilbert, S. F. Developmental Biology. / S. F. Gilbert. — 9-th Ed. — Sunderland, MA, 2009.
- Hill, M. UNSW Embryology / M. Hill // UNSW Embryology [Electronic resource]. — 2011. — Mode of access: <http://php.med.unsw.edu.au/embryology>. — Date of access: 15.09.2011.
- Hille, B. Ionic channels of excitable membranes / B. Hille. — Sunderland, MA. : Sinauer Assoc., 1992.
- Neurotransmitters, Drugs and Brain Function / ed. by R. A. Webster. — Chichester : J. Wiley and Sons Ltd., 2001.
- Noback, C. R. The Human Nervous System: Structure and Function / C. R. Noback [et al.]. — Humana Press, 2005.
- Sanes, D. H. Development of the Nervous System / D. H. Sanes, T. A. Reh, W. A. Harris. — Academic Press, 2005.
- Society for Developmental Biology [Electronic resource]. — 2011. — Mode of access: <http://www.sdbonline.org/>. — Date of access: 15.09.2011.
- Graaff, K. M., van de. Human Anatomy / K. M. van De Graaff. — McGraw-Hill Companies, 2002.

Учебное издание

Сидоров Александр Викторович

ОСНОВЫ КЛЕТОЧНОЙ НЕЙРОБИОЛОГИИ

Учебное пособие

Ответственный за выпуск *Ж. В. Запартыко*

Художник обложки *Т. Ю. Таран*

Компьютерная верстка *О. Ю. Шантарович*

Корректор *Е. И. Бондаренко*

Подписано в печать 15.12.2020. Формат 60×84/16. Бумага офсетная.

Печать цифровая. Усл. печ. л. 23,02. Уч.-изд. л. 24,2.

Тираж 65 экз. Заказ 8310.

Белорусский государственный университет.

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/270 от 03.04.2014.

Пр-т Независимости, 4, 220030, Минск.

Издательско-полиграфическое

частное унитарное предприятие «Донарит».

Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/289 от 17.04.2014.

Ул. Октябрьская, 25, офис 2, 220030, г. Минск, Республика Беларусь.